**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”
Centro de Energia Nuclear na Agricultura**

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: perfil
hematológico e microbiota oral**

Bruno de Oliveira Ferronato

**Dissertação apresentada para
obtenção do título de Mestre
em Ecologia Aplicada**

**Piracicaba
2008**

Bruno de Oliveira Ferronato
Médico Veterinário

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: perfil hematológico e microbiota oral**

Orientadora:

Prof^a. Dra. **ELIANA REIKO MATUSHIMA**

**Dissertação apresentada para
obtenção do título de Mestre em
Ecologia Aplicada**

Piracicaba
2008

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - ESALQ/USP

Ferronato, Bruno de Oliveira

Phrynops Geoffroyanus (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: perfil
hematológico e microbiota oral / Bruno de Oliveira Ferronato. - - Piracicaba, 2008.
64 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 2008.
Bibliografia.

1. Bactérias patogênicas 2. Hematologia veterinária 3. Microbiologia 4. Poluição ambiental
5. Quelônio 6. Répteis I. Título

CDD 598.13

“Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor”

AGRADECIMENTOS

Inicialmente gostaria de agradecer a minha orientadora Eliana R. Matushima, Matú, pelo apoio durante o trabalho, orientação, paciência e pela oportunidade de cursar a pós-graduação.

Agradeço também ao professor Luciano M. Verdade, por ter participado do projeto *Phrynops geoffroanus*, pelo convívio no Laboratório de Ecologia Animal (LEA) e pela orientação. Foi muito proveitosa a parceria entre o Laboratório de Patologia Comparada de Animais Selvagens (LAPCOM) em São Paulo e o LEA em Piracicaba.

Ao nosso grupo de trabalho durante o projeto *Phrynops geoffroanus*, Salmão, Bossa e Aninha fica a lembrança de nossas incursões nas águas do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim. E a ajuda dos barqueiros, Seu Irineu, Marcos e Valdir e ao médico veterinário Basseti, por proporcionar o uso de aparelhos em sua clínica.

Agradeço ao membro do comitê de orientação Franco L. de Souza, pelos comentários na redação desta dissertação.

Obrigado pela equipe do LAPCOM, Alex, Igor, Silmara, Renata, Picaxú e Thaís, que tiveram influência direta no aprendizado das técnicas laboratoriais utilizadas neste trabalho.

Outros amigos que me ajudaram durante a redação da dissertação e análises em geral, pelo apoio e amizade: Carlitos, Thiago Timo, Shoyo e Sady.

À minha namorada Giselle, pelo amor, paciência e apoio nos momentos mais estressantes.

Aos amigos do LEA, Fábio, Carla, Claudinha, Gustavo, Júlio César, Bell, Claudia, Martini, Sabrina, Priscilla, Giovanna, Alexandre e Carol, e aos funcionários Jânia, Seu Mário e Edson.

Aos amigos da pós-graduação, Alexandre, Rafinha, Allyson, Jerusha, Luciana, Renata, Biba, Camila, Grelha, Laurão, Diléia, Jane, Josi, Bruno, Rafael, Eduardo, Michelle, Renata Japa, Shirley, Portelinha, Renata e Vinícius.

Gostaria de agradecer ao Serviço Social da Esalq, pelos anos que morei na Vila Estudantil da Pós-Graduação e todos os amigos de diversos estados e nacionalidades que convivi. E também à secretária do programa de Ecologia Aplicada, Regina e ao professor Plínio Camargo pelo uso de equipamentos de seu laboratório.

Agradeço a técnica Priscila do Laboratório de Doenças Infecciosas (Bacteriologia e Micologia) da FMVZ-USP, pelo processamento das amostras de microbiologia, a Fundação

Parque Zoológico de São Paulo, por ceder suas instalações e animais para a realização do estudo, a CAPES pela bolsa de estudos concedida durante o mestrado, a FAPESP pelo auxílio-pesquisa para a realização do projeto e ao IBAMA, pela concessão da licença de captura e coleta dos cágados.

Agradeço em especial a minha família pelo apoio, amizade e educação.

SUMÁRIO

RESUMO.....	06
ABSTRACT.....	07
1 INTRODUÇÃO.....	08
Referências.....	10
2 <i>PHRYNOPS GEOFFROANUS</i> (TESTUDINES, CHELIDAE) EM AMBIENTE	
ANTRÓPICO: PERFIL HEMATOLÓGICO.....	12
Resumo.....	12
Abstract.....	12
2.1 Introdução.....	13
2.2 Material e Métodos.....	14
2.2.1 Área de Estudo.....	14
2.2.1.1 Rio Piracicaba.....	14
2.2.1.2 Ribeirão Piracicamirim.....	16
2.2.1.3 Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP).....	17
2.2.2 Captura.....	18
2.2.3 Marcação, exame clínico e biometria.....	18
2.2.4 Metodologia analítica.....	19
2.2.4.1 Análise Hematológica.....	19
2.2.4.2 Análises estatísticas.....	23
2.3 Resultados.....	24
2.3.1 Captura.....	24
2.3.2 Padrões hematológicos.....	24
2.3.3 Índice de Estresse (Razão Heterófilo/Linfócito).....	26
2.4 Discussão.....	27
2.4.1 Padrões hematológicos.....	27
2.4.2 Índice de Estresse.....	35
2.4.3 Considerações ecológicas.....	37
2.5 Conclusão.....	38
2.6 Considerações finais.....	38
Referências.....	39

<i>3 PHRYNOPS GEOFFROANUS</i> (TESTUDINES, CHELIDAE) EM AMBIENTE ANTRÓPICO: MICROBIOTA ORAL.....	46
Resumo.....	46
Abstract.....	46
3.1 Introdução.....	47
3.2 Material e Métodos.....	48
3.2.1 Área de Estudo.....	48
3.2.1.1 Rio Piracicaba.....	48
3.2.1.2 Ribeirão Piracicamirim.....	49
3.2.2 Captura.....	51
3.2.3 Análises microbiológicas.....	51
3.3 Resultados.....	53
3.3.1 Captura.....	53
3.3.2 Análises Microbiológicas.....	53
3.4 Discussão.....	55
3.5 Conclusão.....	58
Referências.....	59
4 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	64

RESUMO

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: perfil hematológico e microbiota oral**

Phrynops geoffroanus é uma espécie de quelônio com ampla distribuição na América do Sul, ocupando diversos tipos de habitat, inclusive rios urbanos poluídos. Com o objetivo de se conhecer aspectos ecológicos da espécie em ambientes antropizados, durante os anos de 2006 e 2007 foi realizado um estudo na bacia do rio Piracicaba, tendo como sítios amostrais o rio Piracicaba e seu afluente o ribeirão Piracicamirim. Um dos temas deste estudo foi à avaliação de aspectos sanitários da espécie. Foi investigado o perfil hematológico dos cágados no rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, e avaliado um índice de estresse (razão heterófilo/linfócito), que além dos dois corpos d'água foi adicionado um grupo de animais provenientes de cativeiro, da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. A diferença entre um rio de maior volume, Piracicaba, e seu afluente Piracicamirim, ambos poluídos e com diferentes históricos de ocupação do solo, pouco influenciaram nas variações dos dados hematológicos dos cágados e os animais não apresentaram nenhum sinal de enfermidade através dos resultados obtidos no hemograma. Estas análises foram o tema do primeiro capítulo desta dissertação. Outro aspecto sanitário avaliado foi a microbiota bacteriana oral dos cágados em ambos os corpos d'água, abordado no segundo capítulo. As amostras foram incubadas a 25 e 37°C. Avaliou-se a patogenicidade das bactérias tanto para os cágados quanto para seres humanos. Houve crescimento de bactérias patogênicas para o homem e para os animais e a bactéria mais prevalente a 37°C foi a *Escherichia coli*. Apesar disso, os cágados não apresentaram sinal aparente de infecção. Estudos de longo prazo são recomendados para animais residentes em ambientes antropizados, monitorando-se o estado sanitário e aspectos ecológicos e demográficos.

Palavras-chave: Quelônio; Poluição; Hematologia; Microbiologia; Animais Silvestres

ABSTRACT

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) in anthropogenic environment: blood profile and oral microbiota**

Phrynops geoffroanus is a freshwater turtle species, with a wide distribution in South America, living in many types of habitats, including polluted urban rivers. During 2006 and 2007, aiming to study ecological aspects of the species in anthropogenic environments, it was conducted an investigation at Piracicaba River Basin, in two sample sites, the Piracicaba river and its tributary, Piracicamirim stream. One of the topics studied was a health assessment of the turtles. It was examined the blood profile in Piracicaba and Piracicamirim turtles and evaluated a measure of stress (heterophil/lymphocyte ratio), that had another study group besides the animals from the rivers, turtles in captivity from Sao Paulo Zoo Park Foundation. The difference between a large river, Piracicaba and its tributary Piracicamirim, both polluted and with different soil use and occupation had a little influence on turtles' hematological variation, and the animals did not show any sign of disease through the blood profile examination. These evaluations were the subject of the thesis' first chapter. Another part of the health assessment study, subject of the second chapter, was the oral microbiota investigation, performed in Piracicaba and Piracicamirim turtles. The samples were incubated at 25 and 37° Celsius, aiming to check the bacterium's pathogenicity for the animals and for humans. The results showed growth of pathogenic bacterium for both and the most prevalent bacteria at 37°C was *Escherichia coli*. Although, the turtles did not show any sign of infection. Long-term studies are suggested for turtles living in anthropogenic environments to monitor their health status, demography and ecological issues.

Keywords: Turtle; Pollution, Hematology, Microbiology; Wild Animal

1 INTRODUÇÃO

O conhecimento da história natural de cágados brasileiros ainda é incipiente e nas últimas décadas houve um aumento dos estudos desse grupo, porém a escassez de informações ainda dificulta abordagens mais amplas em aspectos ecológicos e evolutivos das espécies (SOUZA, 2004). *Phrynops geoffroanus* não é uma exceção, e pouco se conhece de sua biologia (SOUZA; ABE, 2000). É a espécie de quelônio de água doce sul-americana com maior distribuição geográfica, ocorrendo da Amazônia Colombiana até a região sul do Brasil, Uruguai e norte da Argentina (ERNST; BARBOUR, 1989; PRITCHARD; TREBBAU, 1984). Há informações biológicas sobre a espécie obtidas de indivíduos mantidos em cativeiro (MOLINA, 1989; MOLINA, 1996), e em condições naturais existem estudos sobre alimentação (DIAS; SOUZA, 2005; FACHIN-TERAN; VOGT; GOMEZ, 1995; MEDEM, 1960), comportamento e reprodução (MEDEM, 1960). Recentemente a espécie foi descrita habitando um rio urbano poluído na cidade de Ribeirão Preto-SP e uma série de dados sobre dieta, aspectos ecológicos e reprodutivos podem ser encontrados em Souza; Abe (2000) e Souza; Abe (2001).

Em vista da escassez de informações sobre a espécie, durante dois anos foi conduzido um estudo na bacia do Rio Piracicaba¹, que englobou temas como área de vida e uso de habitat, estrutura populacional, dieta, biologia reprodutiva e amplificação de marcadores moleculares em *Phrynops geoffroanus*. Os sítios amostrais foram o rio Piracicaba e seu afluente o ribeirão Piracicamirim, ambos antropizados. Além desses tópicos estudados, foram investigadas algumas informações sanitárias da espécie, que serão os temas dos capítulos seguintes desta dissertação.

O conhecimento de aspectos sanitários em quelônios é imprescindível para o entendimento da saúde de uma população (CHRISTOPHER et al., 1999). Análises como o hemograma, bioquímica sanguínea, parasitologia, achados clínicos e patológicos e exames microbiológicos fazem parte da avaliação do perfil sanitário (SAMOUR et al., 1998). Atualmente as principais ameaças a répteis no mundo estão relacionadas a questões de origem antrópica como perda e degradação de habitat, introdução de espécies invasoras, poluição ambiental, uso insustentável e mudança climática global (GIBBONS et al., 2000), e alterações antrópicas podem perturbar o estado de saúde de animais, como alterações dos parâmetros hematológicos e imunológicos (RUIZ et al., 2002). Avaliando-se o perfil hematológico de répteis, é possível

---

¹ Auxílio à Pesquisa FAPESP- Proc. No. 2005/00210-9

monitorar o estado de saúde de animais, diagnosticar e prevenir doenças e estabelecer valores de referência (BOLTEN; BJORNDAL, 1992; CHRISTOPHER et al., 1999; LÓPEZ-OLVERA et al., 2003; METIN et al., 2006; SILVESTRE et al., 2004), e conhecendo-se as bactérias encontradas na cavidade oral, ou seja, a microbiota oral, é possível avaliar a patogenicidade das mesmas. Muitas vezes, bactérias oportunistas que fazem parte da flora normal dos animais, em condições de estresse e baixa de imunidade podem ser responsáveis por infecções (SANTORO et al., 2006). Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi determinar o perfil hematológico e a microbiota bacteriana oral do cágado *Phrynops geoffroanus* em dois corpos d'água poluídos na bacia do rio Piracicaba.

Referências

- BOLTEN, A.B.; BJORNDAL, K.A. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v. 28, n.3, p.407-413, 1992.
- CHRISTOPHER, M.M.; BERRY, K.H.; WALLIS, I.R.; NAGY, K.A.; HENEN, B.T.; PETERSON, C.C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.35, n.2, p.212-238. 1999.
- DIAS, L.C; SOUZA, F.L. *Phrynops geoffroanus* (Geoffroy's side-necked turtle). DIET. **Herpetological Review**, Salt Lake City, v.36, n.1, p.56-57, 2005.
- ERNST, C.H.; BARBOUR, R.W. **Turtles of the world**. Washington and London: Smithsonian Institution Press, 1989. 313p.
- FACHIN-TERAN, A.; VOGT, R.C.; GOMEZ, MFS. Food habitats of an assemblage of five species of turtles in the Rio Guapore, Rondônia, Brazil. **Journal of Herpetology**, Salt Lake City, v.29, p. 536-547, 1995.
- GIBBONS, J.W.; SCOTT, DE.; RYAN, T.J.; BUHLMANN, K.A.; TUBERVILLE, T.D.; METTS, B.S.; GREENE, J.L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S.; WINNE, C.T. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **Bioscience**, Washington, v.50, n.8, p.653-666, 2000.
- LÓPEZ-OLVERA, J.R.; MONTANÉ, J.; MARCO, I.; MARTINEZ-SILVESTRE, A.; SOLER, J.; LAVIN, S. Effect of venipuncture site on hematologic and biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Disease**, Lawrence, v.39, n.4, p.830-836, 2003.
- MEDEM, F. Informes sobre reptiles colombianos (V). Observaciones sobre la distribución geográfica y ecología de la tortuga *Phrynops geoffroana ssp.* en Colombia. **Novedades Colombianas**, Popayán, v.1, p.291-300, 1960.
- METIN, K.; TÜRKÖZAN, O.; KARGIN, F.; BASIMOGLU KOCA, Y.; TASKAVAK, E.; KOCA, S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European Pond Turtle *Emys orbicularis*. **Acta Veterinaria Brunensis**, Brno, v.75, p.49-55, 2006.
- MOLINA, F.B. **Observações sobre a biologia e o comportamento de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae)**. 1989. 185p. Dissertação (Mestrado em Zoologia)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.
- MOLINA, F.B. Mating behavior of captive Geoffroy's sidenecked turtles, *Phrynops geoffroanus* (Testudines: Chelidae). **Herpetological Natural History**, Salt Lake City, v.4, p.155-160, 1996.

PRITCHARD, P.C.H.; TREBBAU, P. *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812). In: _____. **The Turtles of Venezuela**. Athens, Ohio: Society for Study of Amphibians and Reptiles, 1984. p111-117.

RUIZ, G.; ROSENMAN, M.; NOVOA, F.F.; SABAT, P. Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. **The Condor**, Albuquerque, v.104, p.162-166, 2002.

SAMOUR, J.H.; HOWLETT, J.C.; SILVANOSE, C.; HASBUN, C.R.; AL-GHAIS, S.M. Normal haematology of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. **Comparative Haematology International**, London, v.8, p.102-107, 1998.

SANTORO, M.; HERNANDEZ, G.; CABALLERO, M.; GARCIA, F. Aerobic bacterial flora of nesting green turtle (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.37, n.4, p.549-552, 2006.

SILVESTRE, A.M.; DOMÍNGUEZ, M.A.; MATEO, J.A.; PASTOR, J.; MARCO, I.; LAVÍN, S.; CUENCA R. Comparative hematology and blood chemistry of endangered lizards (*Galottia* species) in the Canary islands. **Veterinary Record**, London, v.155, p.266-269, 2004.

SOUZA, F.L. Uma revisão sobre os padrões de atividade, reprodução e alimentação de cágados brasileiros (Testudines, Chelidae). **Phyllomedusa**, Piracicaba, v.3, n.1, p.15-27, 2004.

SOUZA, F.L.; ABE, AS. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. **Journal of the Zoological Society of London**, London, v.252, p.437-446, 2000.

SOUZA, F.L.; ABE, A.S. Population structure and reproductive aspects of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting an urban river in southeastern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, London, v.36, n.1, p.57-62, 2001.

2 *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: perfil hematológico.

Resumo

Atualmente existem diversas causas responsáveis pelo declínio de répteis, sendo a maioria delas originadas de ações humanas. Apesar disso, há ocorrência de algumas espécies de quelônios em ambientes urbanos poluídos. Sabendo-se que alterações ambientais podem modificar o estado imune e o perfil hematológico de animais, durante o ano de 2006 foram capturados cágados da espécie *Phrynops geoffroanus* na bacia do rio Piracicaba, com o objetivo de determinar o perfil hematológico. Obteve-se o resultado de 51 cágados capturados no rio Piracicaba e 42 no ribeirão Piracicamirim, sendo o corpo d'água receptor e seu afluente, respectivamente, ambos poluídos. Comparando-se as variáveis hematológicas entre os sítios amostrais, não houve diferença quanto ao sexo dos animais, nem na interação “rio x sexo”. As únicas variáveis hematológicas que apresentaram diferença foram à contagem total de eritrócitos, maior no rio Piracicaba, e o volume globular médio (VCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM), maiores no ribeirão Piracicamirim. Outro parâmetro investigado foi um índice de estresse, obtido pela razão entre a quantidade de heterófilos pela de linfócitos. Foram analisados grupos constituídos pelo sexo dos animais e seu respectivo sítio amostral. Além dos animais machos e fêmeas do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, foi estudado um grupo de 10 animais machos de cativeiro, provenientes da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Foi observado que o grupo de animais em cativeiro obteve os maiores valores quando comparado aos outros, ou seja, com mais estresse, seguido do grupo de fêmeas do ribeirão Piracicamirim. Comparando-se os valores do perfil hematológico dos cágados em relação a dados de literatura, não houve nenhum parâmetro que estivesse acentuadamente alterado, demonstrando que pelo exame feito, os animais não apresentam nenhuma afecção aparente e em curto prazo não parece haver algum fator que possa causar declínio populacional. A diferença entre o volume dos corpos d'água e o uso e ocupação do solo pouco influenciaram na variação dos dados hematológicos de *Phrynops geoffroanus*. Estudos de longo prazo são recomendados para o monitoramento do estado de saúde e aspectos demográficos do cágado *Phrynops geoffroanus* na bacia do rio Piracicaba.

Palavras-chave: Quelônio; Hemograma; Poluição; Razão Heterófilo/Linfócito

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) in anthropogenic environment: blood profile**

Abstract

Recently, many of the causes responsible for the reptiles' decline are related with human activities. However, there are some freshwater turtle species living in polluted urban rivers. Knowing that environmental perturbations can alter the immune status of the animals and their blood profile, during the year of 2006 it was captured individuals of *Phrynops geoffroanus* at Piracicaba River Basin, aiming to describe their blood profile. We got 51 turtles in Piracicaba river and 42 in Piracicamirim stream, the main river and its tributary respectively, being both polluted. Comparing the hematological variables between the samples sites, there was no difference for sex, neither for the interaction “site x sex”. The total red blood cell count (higher in

Piracicaba), and the mean corpuscular volume (MCV) and mean corpuscular hemoglobin (MCH), both higher in Piracicamirim stream, were the only hematological values that showed differences between sites. Other topic investigated was a measure of stress (heterophil/lymphocyte ratio), using groups composed by sex and site. Besides the males and females of Piracicaba and Piracicamirim, it was included a group of 10 captivity males, from Sao Paulo Zoo Park Foundation. It was noticed that the captivity males group had the higher values, meaning more stressed, followed by the Piracicamirim females group. Comparing the turtles' blood profile results due to literature data, there were no variable with highly altered values, demonstrating through this exam that the turtles do not have apparent signs of disease and in a short-term, it does not seem to exist any factor that can cause a population decline. The difference between the volume of the two rivers and theirs use and occupation of the soil had a little influence on turtles' hematological variation. Long-term studies are recommended to monitor the health status and demography of *Phrynops geoffroanus* at Piracicaba River Basin.

Keywords: Turtle; Hemogram; Pollution; Heterophil/Lymphocyte ratio

2.1 Introdução

O declínio populacional de répteis tem sido documentado em trabalhos ao redor do mundo, sendo estabelecido pela organização Parceiros na Conservação de Anfíbios e Répteis (Partners in Amphibian and Reptile Conservation), seis categorias de ameaças principais a este grupo, que inclui perda e degradação de habitat, introdução de espécies invasoras, poluição ambiental, doenças, uso insustentável e mudança climática global (GIBBONS et al., 2000).

Segundo Rodrigues (2005), a principal ameaça a répteis no Brasil é a destruição de habitat. Outra causa não menos importante de declínio de populações de quelônios e crocodilianos no país é a degradação dos rios, devido à perda da mata ciliar, erosão, aumento de silte e poluição e envenenamento das águas, seja através de descargas domésticas, industriais ou de agroquímicos utilizados em plantações (RODRIGUES, 2005).

Apesar da degradação ambiental e poluição estarem entre as principais causas de declínio populacional de répteis, há espécies que conseguem persistir em ambientes antropizados, como alguns quelônios de água doce em regiões temperadas (BUDISCHAK et al., 2006; GIBBONS, 1967; LINDEMAN, 1996; MITCHELL, 1988; MOLL, 1980). No Brasil, há poucos anos foi documentada a ocorrência do cágado *Phrynops geoffroanus* em rios urbanos poluídos (BRITES; RANTIN, 2004; SOUZA; ABE, 2000, 2001) e segundo Souza; Abe (2000) estes animais

apresentavam população abundante e elevada biomassa, parecendo estar bem adaptados a este tipo de ambiente.

A obtenção de dados hematológicos e bioquímicos em répteis é importante para monitoramento do estado de saúde, diagnóstico e prevenção de doenças, estabelecimento de valores de referência e para o manejo e conservação de populações de vida livre (BOLTEN; BJORNDALE, 1992; CHRISTOPHER et al., 1999; LÓPEZ-OLVERA et al., 2003; METIN et al., 2006; SILVESTRE et al., 2004).

Sabendo-se que alterações ambientais podem causar impactos e enfermidades em populações de animais silvestres e modificar seus valores hematológicos (CHRISTOPHER et al., 1999; WORK; BALAZS, 1999; RUIZ et al., 2002), este trabalho teve como objetivo determinar o perfil hematológico e avaliar o estado sanitário e índice de estresse da espécie de cágado *Phrynops geoffroanus* em dois corpos d'água poluídos na bacia do rio Piracicaba e comparar seus resultados com animais mantidos em cativeiro e dados de literatura. Os sítios amostrais estudados foram o rio Piracicaba - rio de grande volume d'água, com elevada urbanização, elevada industrialização e elevada influência de agroquímicos de diferentes culturas, como cana-de-açúcar, cítricos e pastagens (MARTINELLI et al., 1999), o ribeirão Piracicamirim - afluente do rio Piracicaba, com menor volume d'água, elevada urbanização proporcional ao seu tamanho, influência de agroquímicos provenientes da cana-de-açúcar (OMETO et al., 2000) e a Fundação Parque Zoológico de São Paulo – ambiente de cativeiro utilizado para visitação pública, recreação e pesquisa.

Esta investigação fez parte do “Projeto *Phrynops geoffroanus*”² que teve como objetivo estudar a ecologia da espécie na bacia do rio Piracicaba, com trabalhos de estrutura populacional, dieta, biologia reprodutiva, uso de habitat, genética e estado sanitário.

2.2 Material e Métodos

2.2.1 Área de Estudo

2.2.1.1 Rio Piracicaba

---

² Auxílio à Pesquisa FAPESP- Proc. No. 2005/00210-9

A bacia hidrográfica do rio Piracicaba localiza-se na porção sudeste do Estado de São Paulo, entre os paralelos 22°00' e 23°30' S e os meridianos 45°45' e 48°30' W, sendo constituída pelos rios Atibaia, Corumbataí, Jaguari e Piracicaba. Perfaz um total de 12400 km² e apresenta um desnível topográfico de cerca de 1400 m em uma extensão de 370 km, desde suas cabeceiras na serra da Mantiqueira, no Estado de Minas Gerais, até sua foz no Rio Tietê. (FERRAZ; MARTINELLI; VICTORIA, 2001).

Essa região, com uma população de aproximadamente 2,96 milhões de habitantes é um verdadeiro modelo de "bacia desenvolvida", abrangendo 61 municípios. Contudo, a ocupação do solo ocorre de forma bastante heterogênea: 87% da população vivem nos centros urbanos, 66% dos quais localizados nas cidades de Campinas, Piracicaba, Limeira, Americana e Rio Claro. As atividades econômicas na bacia também se caracterizam pela heterogeneidade, com regiões tipicamente voltadas para o setor agrícola e outras para o industrial. Ao longo do último século, a cobertura dos solos na bacia do Piracicaba tem sofrido alterações de grande envergadura, as quais causaram modificações significativas na paisagem original e na qualidade de suas águas. As culturas de cana-de-açúcar, de cítricos e pastagens são as mais importantes, tanto em termos econômicos quanto em extensão. As duas primeiras culturas fornecem matéria-prima para as indústrias de álcool e suco de laranja e foram responsáveis pelo crescimento populacional elevado observado ao redor da bacia (GRANDE; REZENDE; ROCHA, 2003).

De acordo com a Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental (2001), as principais atividades industriais da bacia são: papel e celulose, alimentícia, indústrias do ramo sucro-alcooleiro, têxtil, curtumes, metalúrgicas, químicas e refinaria de petróleo. Apesar da influência do parque industrial sobre os rios da bacia - sem o eximir como um dos agentes ativos no desequilíbrio ecológico, juntamente com outras fontes difusas - as descargas contínuas de efluentes domésticos *in natura* representam o grande estressor ambiental que acarreta a degradação da qualidade da água e, conseqüentemente, altera as comunidades biológicas, desse ambiente aquático (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental, 2007).

A captura de animais foi realizada em um trecho de 2 km no rio Piracicaba, tendo como ponto referencial a Ponte Coopersucar (22°41'75"S 47°33'58"W), que está a aproximadamente 4 km da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo (ESALQ-USP), na cidade de Piracicaba-SP (figura 1). Este sítio amostral está situado na região central da

bacia do rio Piracicaba, que corresponde a 20% da área total da bacia, mas que produz mais de 50% dos efluentes domésticos e industriais (DANIEL et al., 2002; MARTINELLI et al., 1999).

2.2.1.2 Ribeirão Piracicamirim

O ribeirão Piracicamirim, tributário do rio Piracicaba, tem a sua nascente na cidade de Saltinho-SP. A microbacia do ribeirão Piracicamirim (entre os paralelos 22°41' e 22°52' S e entre os meridianos 47°35' e 47°43' W), estende-se por uma área de 133 km² e abriga uma população de aproximadamente 95 mil habitantes, localizada nos municípios de Piracicaba, Rio das Pedras e Saltinho (TOLEDO; BALLESTER, 2001). O ribeirão Piracicamirim apresenta uma extensão de 24,6 km desde sua cabeceira até sua foz, no rio Piracicaba e tem em média 4,26m de largura e 1,56m de profundidade (OMETTO et al., 2000).

Segundo Young (2000), sua área abrange uma parcela da área central do município de Piracicaba, extremamente urbanizada e áreas rurais com características agro-industriais. Atualmente a cana-de-açúcar é o principal cultivo (TOLEDO; BALLESTER, 2001).

Em 1985, o ribeirão Piracicamirim era considerado o mais poluído afluente do Piracicaba. Apesar da construção da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Piracicamirim, em 1997, que permitiu avançar rumo à despoluição do córrego, o corpo d'água ainda é considerado poluído (BALLESTER et al., 1999; ECOAR, 2007). Suas principais fontes de poluição são lançamentos de esgotos clandestinos e insumos químicos das plantações de cana-de-açúcar (OMETTO et al., 2004).

A captura de animais no ribeirão Piracicamirim (22°42'51"S 47°37'36"W) foi realizada próximo ao Departamento de Entomologia, dentro do Campus da ESALQ-USP, na cidade de Piracicaba-SP. Este sítio amostral está próximo à foz do ribeirão e é considerado o seu trecho mais antropizado e poluído (OMETTO et al., 2000). O ponto de captura está situado abaixo da região onde os animais do rio Piracicaba foram capturados (figura 1).

Figura 1- Bacia hidrográfica do rio Piracicaba e microbacia do ribeirão Piracicamirim. Em destaque (setas) os pontos de captura nos dois corpos d'água (Fonte: adaptado de www.cena.usp.br/piracena)

2.2.1.3 Fundação Parque Zoológico de São Paulo (FPZSP)

Essa instituição, localizada da cidade de São Paulo-SP, abriga exemplares de *Phrynops geoffroanus* em cativeiro. Atualmente possui nove animais, machos, expostos em recinto para a visitação pública.

Os quelônios são mantidos no recinto n° 78, que possui cerca de 400 m² de área, apresentando um tanque na região central, com profundidade máxima de 1m. Metade da área do recinto é sombreada e a outra metade é exposta ao sol (MOLINA, 1989). No tanque existe um tronco parcialmente emerso, para os animais assoalharem. A água do tanque é trocada a cada três meses. Os exemplares de *Phrynops geoffroanus* atualmente convivem no recinto com outras espécies de répteis, como vinte jabutis (*Geochelone carbonaria*), um casal de jacarés-do-pantanal

(*Caiman yacare*), um casal de jacaretinga (*Caiman crocodilus crocodilus*) e 39 de tigres d'água (*Trachemys dorbigny*) (CORRAZA³).

2.2.2 Captura

Os exemplares foram capturados no rio Piracicaba através do método de busca ativa (LAGUEUX et al., 1995), durante a noite, com uso de puçás, faroletes e barco motorizado. Foi utilizado um trecho de aproximadamente 2 km do rio. Após a captura, os quelônios foram acondicionados em caixas plásticas e transportados ao Laboratório de Ecologia Animal, na ESALQ-USP, em Piracicaba-SP. As capturas neste rio ocorreram de agosto a outubro de 2006, no total de oito saídas a campo.

A captura dos quelônios no ribeirão Piracicamirim foi feita com quatro redes de pesca (material nylon; malha três a cinco cm; dois metros de altura) que foram estendidas e fixadas nas margens do ribeirão (SOUZA; ABE, 2000), durante o dia. A cada três horas as redes foram vistoriadas com uso de barco a remo. Conforme os quelônios foram coletados, os mesmos foram acondicionados em caixas de plástico e transportados ao Laboratório de Ecologia Animal, na ESALQ-USP. As capturas nesse corpo d'água ocorreram entre maio e outubro de 2006, com 12 saídas a campo.

O estudo também incluiu quelônios provenientes da FPZSP, com intuito de investigar o perfil hematológico e o índice de estresse. As coletas foram realizadas entre o mês de julho e outubro de 2006.

2.2.3 Marcação, exame clínico e biometria

Os exemplares capturados nos dois corpos d'água foram marcados com ranhuras nos escudos marginais (CAGLE, 1939), além de receberem o implante de um “microchip” no tecido subcutâneo, no membro posterior esquerdo (BUHLMANN; TUBERVILLE, 1998; DIXON; YANOSKY, 1999).

---

³ CORRAZA, S.S. Programa de Aperfeiçoamento Profissional, Fundação Zoológico de São Paulo. Informação pessoal, 2007.

Foi realizado um exame clínico nos animais e elaborada uma ficha de campo para cada animal dos três sítios amostrais. Os exemplares foram sexados pelas características externas. As fêmeas apresentam-se maiores e com maior massa corpórea e os machos apresentam cauda maior e uma ligeira concavidade no plastrão (MOLINA, 1989). Para essa investigação foram utilizados apenas indivíduos adultos. Segundo Souza (1999), jovens apresentam comprimento da carapaça $\leq 210\text{mm}$.

2.2.4 Metodologia analítica

2.2.4.1 Análise Hematológica

Compararam-se, através de análise estatística, os dados do perfil hematológico entre os cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim (animais de vida livre), e para a avaliação de estresse foram comparados os animais de vida livre e os indivíduos da FPZSP (cativeiro).

A colheita de sangue dos quelônios de vida livre foi realizada no Laboratório de Ecologia Animal, na ESALQ-USP. Devido ao método de captura utilizado no ribeirão Piracicamirim, os cágados foram mantidos em tanques de água no laboratório citado, até a retirada de sangue, não excedendo mais do que 6 horas entre a captura do indivíduo e a colheita. No rio Piracicaba, o tempo entre a captura e a retirada de sangue foi de aproximadamente 3 horas, pois os quelônios eram capturados por busca ativa e logo que a quantidade desejada de animais fosse atingida, os pesquisadores retornavam ao laboratório. Na FPZSP, a colheita de sangue ocorreu logo após a retirada dos animais de seu recinto.

As amostras sangüíneas foram colhidas do ramo externo da veia jugular (ROGERS; BOOTH, 2004), em volume de 3 ml, com o uso de seringa de 5 ml (figura 2b). Uma alíquota de cada amostra foi destinada à confecção de extensões sangüíneas (ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997) e o restante foi acondicionada em tubos contendo heparina lítica (BD Vacutainer®), como anticoagulante, para a determinação do perfil hematológico. As amostras dos animais de vida livre foram mantidas refrigeradas e encaminhadas ao Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres, na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo-SP no dia seguinte à colheita, em recipiente de isopor com gelo artificial. As amostras dos animais de cativeiro foram refrigeradas em isopor

com gelo artificial e transportadas no mesmo dia para o laboratório citado acima. O período entre a colheita de sangue e a análise do perfil hematológico não ultrapassou 24 horas (ZAGO et al., 2005).

Figura 2 - *Phrynops geoffroanus*: a) Vista em detalhe, b) Colheita de sangue)

Os protocolos utilizados para a realização do hemograma foram:

a) Determinação do Volume Globular ou Hematócrito (Ht): Cerca de dois terços de um tubo capilar foram preenchidos com a amostra sangüínea, sendo vedado com uma massa própria e colocado em uma centrífuga de microhematócrito (MADER, 2000). Após centrifugação a 10.000 rpm durante 5 minutos foi realizada a leitura com o auxílio de um cartão de hematócrito.

b) Proteína Plasmática Total: Foi calculada após a leitura do hematócrito, utilizando o plasma contido no tubo capilar. Este procedimento foi realizado quebrando-se cuidadosamente o capilar com a finalidade de separar o volume de eritrócitos e o de leucócitos do plasma. A dosagem da proteína plasmática total foi feita com uso do refratômetro e a unidade de medida utilizada foi g/dL.

c) Hemoglobina (Hb): A concentração de hemoglobina sangüínea foi realizada pelo método da cianometahemoglobina (CAMPBELL, 1996). Esse dado constitui uma forma de avaliação do transporte de oxigênio pelo organismo e também de seu aproveitamento pelos vários tecidos. Para determinar a concentração de hemoglobina foi utilizado um kit comercial da empresa LABTEST® Reagentes. Os tubos de ensaio foram devidamente identificados com o número da respectiva amostra, sendo adicionado a cada tubo 5 ml do reagente de cor preparado previamente. Com o auxílio de uma pipeta automática foram colocados 20 µL da amostra de

sangue com heparina. A solução foi homogeneizada e centrifugada, com o intuito de provocar a lise dos eritrócitos, retirando os núcleos da mistura sangue – reagente de cianometahemoglobina. A fração utilizada para análise foi o sobrenadante, fornecendo assim, um valor mais apurado da concentração de hemoglobina. As leituras foram realizadas no analisador LABQUEST®, da empresa LABTEST® Diagnóstica Ltda., utilizando-se água destilada como branco. O analisador foi ajustado a 100% de transmissão, em 540 nm. Além da absorbância também nos foi fornecido pelo aparelho o valor de hemoglobina em g/dL.

d) Contagem Total de Eritrócitos: Esse procedimento foi realizado segundo método descrito por Campbell (1996), utilizando uma câmara de Neubauer. Foi colocado em um tubo de ensaio, 4 ml de diluente isotônico Natt e Herrick (NATT; HERRICK, 1952) e adicionado 20 µL da amostra de sangue com heparina, utilizando pipeta automática. A solução foi homogeneizada e a câmara de Neubauer então preenchida para que a contagem em aumento de 400 vezes. Para a contagem celular foram utilizados cinco pequenos quadrantes, na área do quadrante central (figura 3) da câmara. O cálculo utilizado para obtenção do número de eritrócitos por milímetro cúbico (mm³) foi realizado de acordo com a seguinte fórmula, levando-se em conta que a diluição utilizada foi 1:200,

$$\text{Contagem Total de Eritrócitos}(\text{mm}^3) = n^{\circ} \text{ de eritrócitos contados} \times 200 \times 10 \times 5$$

Onde, 200 refere-se à diluição, 10 à altura da câmara e 5 à área contada.

e) Contagem Total de Leucócitos: Foi realizada por método manual. A diluição utilizada para contagem de leucócitos foi a mesma para contagem de eritrócitos, com uso de solução de Natt e Herrick (NATT; HERRICK, 1952). Também foi utilizada a câmara de Neubauer para a contagem de leucócitos, diferindo apenas quanto à área de contagem (figura 3). Conseqüentemente, o cálculo para estabelecimento do número de leucócitos por milímetro cúbico (mm³) também foi alterado, estando representado a seguir:

$$\text{Contagem Total de Leucócitos}(\text{mm}^3) = n^{\circ} \text{ de leucócitos} \times 200 \times 10 \times \frac{1}{4}$$

sendo o fator 200 referente à diluição, o fator 10 referente à altura da câmara e o fator $\frac{1}{4}$, à divisão das 4 regiões contadas.

Figura 3- Área de contagem celular na câmara de Neubauer. Os quatro quadrantes representados pela letra L são usados para a contagem total de leucócitos, e o no quadrante central, os cinco pequenos quadrantes marcados são usados para a contagem total de eritrócitos

f) Trombócitos: A técnica utilizada para contagem deste tipo celular foi realizada nas extensões sangüíneas a partir da contagem do número de trombócitos em cada 1000 eritrócitos. O cálculo final, tendo como unidade o mm^3 , está demonstrado a seguir:

$$\text{Trombócitos}(\text{mm}^3) = n^{\circ} \text{ de trombócitos} \times \text{Contagem total de Eritrócitos} \div 1000$$

g) Contagem diferencial de leucócitos: Para identificação dos tipos celulares foram utilizadas as extensões sangüíneas realizadas no dia da coleta, secas ao ar e coradas com May-Grunwald-Giemsa modificado (ROSENFELD, 1947). A técnica utilizada para coloração consistiu em cobrir a lâmina com 1 ml do corante e deixar por 3 minutos. Decorrido este tempo foram adicionados 2 ml de água MilliQ sobre a extensão com o corante. Após 13 minutos a lâmina foi lavada com água deionizada e colocada para secar, estando pronta para visualização em microscópio ótico em objetiva de imersão. Através deste tipo de contagem foram avaliadas as seguintes células: heterófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos (BRENNER et al., 2002; DEEM et al., 2006; METIN et al., 2006; SYPEK; BORYSENKO, 1988). Inicialmente foi

obtido o número relativo(%) de cada uma, através da contagem de 100 células, e em seguida obteve-se o valor absoluto desses tipos celulares, multiplicando-se o valor obtido na Contagem Total de Leucócitos pelo número relativo de cada uma delas e dividindo por 100, como demonstrado na equação:

$$\text{Contagem diferencial de Leucócitos}(mm^3) = n^{\circ} \text{ Total de Leucócitos} \times n^{\circ} \text{ relativo} \div 100$$

Foram utilizados apenas os valores absolutos da contagem diferencial de leucócitos para as análises.

h) Índice de Estresse (Razão Heterófilo/Linfócito): Através da contagem diferencial de leucócitos, pode-se calcular um índice de estresse. Ele é obtido dividindo-se o número absoluto de heterófilos pelo de linfócitos (AGUIRRE et al., 1995; GROSS; SIEGEL, 1983; LANCE; ELSEY, 1999). Essa razão heterófilo/linfócito (H:L) é um indicativo de estresse crônico, que é representada por uma elevação no número de heterófilos e uma diminuição dos linfócitos (SIEGEL, 1980).

i) Índices Hematimétricos: volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM). Esses valores foram calculados a partir dos valores obtidos para hematócrito(Ht), hemoglobina(Hb) e contagem total de eritrócitos(He), (CAMPBELL, 1996). As equações dos índices são apresentadas abaixo:

$$VCM(fl) = Ht \times 10 \div He \times 10^5$$

$$HCM(pg) = Hb \times 10 \div He \times 10^5$$

$$CHCM(g / dL) = Hb \times 100 \div Ht$$

2.2.4.2 Análises estatísticas

a) Padrões hematológicos

A comparação do perfil hematológico entre os três sítios amostrais foi feita através da observação direta de suas estatísticas descritivas (média, desvio padrão, mínimo e máximo).

Compararam-se as variáveis hematológicas dos cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim com uso de análise de variância (General linear model). Foram consideradas como variáveis independentes, o rio, sexo e interação “rio x sexo”. As variáveis dependentes foram classificadas em três grupos: geral (hematócrito, proteína plasmática, hemoglobina, contagem total de eritrócitos, contagem total de leucócitos e trombócitos), série branca (eosinófilos, basófilos, heterófilos, linfócitos e monócitos) e série vermelha (VCM, HCM e CHCM). Para cada grupo foi realizada uma análise de variância. Quando o resultado demonstrou que havia diferenças estatísticas significativas, foram realizadas análises de média (Anom). Para a realização das análises acima foi usado o programa Minitab for Windows 15 (Copyright ©2008 Minitab Inc.).

b) Índice de Estresse

Foi utilizada a análise de variância e foram considerados cinco grupos amostrais: Machos do rio Piracicaba, Fêmeas do rio Piracicaba, Machos do rio Piracicamirim, Fêmeas do rio Piracicamirim e Machos do Zoológico. Para a comparação das médias entre os grupos foi usado o Teste de Tukey. As análises de índice de estresse foram realizadas com uso do programa Systat Version 10 (Copyright © 2002 Systat Software Inc.).

2.3 Resultados

2.3.1 Captura

Foram coletados 51 animais no rio Piracicaba, sendo 29 machos e 22 fêmeas. E no ribeirão Piracicamirim obteve-se 42 indivíduos, sendo 24 machos e 18 fêmeas. Foram utilizados nove cágados, machos adultos, provenientes da FPZSP.

2.3.2 Padrões hematológicos

Tabela 2.1- Perfil hematológico do cágado *Phrynops geoffroanus* no rio Piracicaba, ribeirão Piracicamirim e na Fundação Parque Zoológico de São Paulo.

Média, desvio padrão, amplitude de variação (entre parênteses)

	Piracicaba Fêmeas (n=22)	Piracicaba Machos (n=29)	Piracicamirim Fêmeas (n=18)	Piracicamirim Machos (n=24)	Zoológicos Machos (n=9)
Hematócrito %	21,1± 5,4 (13-32)	22± 4,5 (14-30)	21,1± 4,6 (15-32)	22,6± 5,6 (12-32)	22,6± 6,4 (13-31)
Proteína plasmática Total g dl-1	5,91± 1,29 (3,8-8,4)	6,2± 1,47 (3,4-9,2)	5,96± 1,18 (3,9-7,8)	6,81± 2,15 (3,6-11,2)	7,9± 1,22 (6,2-9,8)
Hemogloblina g dl-1	5,1± 1,38 (3,2-7,8)	5,68± 1,61 (2,8-9,5)	4,86± 1,06 (3,3-7,1)	5,38± 1,95 (2,9-11,2)	5,86± 0,88 (4,6-7,1)
Contagem Total Eritrócitos (x 10 ³ mm ⁻³) **	484± 178 (210-870)	482± 140 (250-860)	364± 146 (100-660)	384± 99,7 (240-660)	392± 81 (250-520)
Contagem Total Leucócitos (x 10 ³ mm ⁻³)	5,9± 3,5 (1,5-15)	5,7± 3,1 (1,5-12)	6,7± 3,0 (1,5-15)	6,6± 3,3 (3-16)	6,0± 4,6 (1-14)
Heterófilos absolutos (x 10 ³ mm ⁻³)	1,9± 2,0 (0,2-7,5)	1,9± 1,5 (0,3-7,2)	2,5± 2,1 (0,5-8,7)	2,0± 1,8 (0,4-7)	3,2± 3,1 (0,1-8,8)
Eosinófilos absolutos (x 10 ³ mm ⁻³)	0,89± 0,47 (0,2-1,8)	0,99± 0,78 (0,1-2,9)	0,93± 0,64 (0,2-2,5)	1,1± 0,8 (0,1-3,3)	0,37± 0,3(0,1-1,1)
Basófilos absolutos (x 10 ³ mm ⁻³)	0,43± 0,3 (0,07-1,0)	0,37± 0,3 (0,05-1,2)	0,48± 0,41 (0,05-1,8)	0,47± 0,34 (0-1,1)	0,52± 0,32 (0,06-1,2)
Linfócitos absolutos (x 10 ³ mm ⁻³)	2,4± 1,4 (0,8-6,2)	2,3± 1,7 (0,7-7)	2,43± 1,5 (0,5-5,6)	2,8± 1,6 (0,6-6,4)	1,5± 1,0 (0,3-3,3)
Monócitos absolutos (x 10 ³ mm ⁻³)	0,17± 0,22 (0-0,7)	0,14± 0,11 (0-0,4)	0,26± 0,3 (0-1,2)	0,20± 0,29 (0-1,4)	0,37± 0,35 (0,03-0,8)
Trombócitos (x 10 ³ mm ⁻³)	25± 28 (7,2-148)	19± 11 (7,8-59)	12± 7,8(1,7-28)	12,6± 7,4(2,1-29)	12,9± 4,2(5,7-17,1)
VCM fl **	469± 122 (241,3-628,5)	487± 141 (215,1-756,7)	650± 246 (418,1-1500)	601,2± 140,7 (400-1000)	579,2± 135,1 (371,4-866,6)
HCM pg **	112,9± 31,3 (74,6-214)	122,4± 37,6 (68,2-243,5)	149,9± 55,7 (90,9-330)	144,7± 58,3 (93,9-329,4)	155,2± 38,3 (109,5-208)
CHCM g dl-1	24,7± 6,1(19,6-39)	26,7± 9,6(13,3-51,1)	23± 1,9(19,5-26,6)	23,6± 4,7(17,8-41,4)	28,3± 11,6(19,6-54,6)

** Valores que apresentaram diferença estatística (p<0,05) em função do local de captura, entre o rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim

Não há diferenças entre os sexos e na interação rio x sexo dos cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim quanto às variáveis hematológicas.

Há diferença significativa em relação ao curso d'água quanto às seguintes variáveis hematológicas: Contagem total de eritrócitos (Piracicaba>Piracicamirim), VCM (Piracicamirim>Piracicaba) e HCM (Piracicamirim>Piracicaba).

2.3.3 Índice de Estresse (Razão Heterófilo/Linfócito)

Tabela 2.2- Razão Heterófilo/Linfócito em *Phrynosoma geoffroanus* em função do local de coleta e sexo. Média, desvio padrão, amplitude de variação (entre parênteses)

Local/Sexo	N	Razão Heterófilo:Linfócito
Piracicaba Fêmeas	22	0,85± 0,66 (0,14-2,5)
Piracicaba Machos	29	0,91± 0,54 (0,10-2,6)
Piracicamirim Fêmeas	18	1,52± 1,41 (0,18-5,3)
Piracicamirim Machos	24	0,94± 1,01 (0,09-4,6)
Zoológico Machos	9	1,97± 1,30 (0,32-4,4)

Houve diferença entre os grupos amostrados. Pelo Teste de Tukey, o grupo dos animais do Zoológico Machos são iguais aos do Piracicamirim Fêmeas, porém o Zoológico Machos são diferentes demais grupos. E o grupo Piracicamirim Fêmeas são iguais ao Piracicaba Fêmeas, Piracicaba Machos e Piracicamirim Machos.

Apesar de haver diferença estatística entre os grupos amostrados, observando os valores da razão heterófilo/linfócito (figura 4), não parece haver uma nítida separação dos grupos.

Figura 4 - Valores da razão heterófilo/linfócito dos cinco grupos amostrados. PiraF= Piracicaba Fêmeas, PiraM= Piracicaba Machos, PiscaF= Piracicamirim Fêmeas , PiscaM= Piracicamirim Machos, ZooM= Zoológico Machos

2.4 Discussão

2.4.1 Padrões hematológicos

Para a comparação entre os sítios amostrais quanto as variáveis hematológicas, optou-se por testar através de análise estatística apenas os animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, pois ambos apresentam machos e fêmeas na amostra, sendo que os animais da FPZSP são de apenas um sexo, possuem uma amostra pequena e tal situação não estaria de acordo com as premissas da análise de variância que necessita que haja similaridade entre os grupos amostrados. Quando houve comparação entre os três sítios amostrais na discussão dos dados, foi feita apenas uma análise descritiva, através da média, desvio padrão e valores máximo e mínimo. E quando houve comparação com dados de literatura procurou-se utilizar principalmente dados hematológicos de quelônios.

Comparação entre sexos: animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim

Diferenças nos parâmetros hematológicos em relação ao sexo são comuns em algumas espécies de quelônios. Hart et al. (1991) descreveram que fêmeas de *Geochelone gigantea* tiveram valores significativamente menores de hemoglobina, contagem total de eritrócitos e hematócrito do que machos. Inversamente, Christopher et al. (1999) demonstraram que machos de *Gopherus agassizii* apresentavam hemoglobina, contagem total de eritrócitos e hematócrito maiores que de fêmeas. Samour et al. (1998) em estudo dos valores de referência da tartaruga marinha verde (*Chelonia mydas*), verificaram que fêmeas apresentavam maiores valores na contagem total de eritrócitos. Porém, no presente estudo, não houve diferença de parâmetros entre os sexos, nem na interação “rio x sexo”, entre os animais no rio Piracicaba e no ribeirão Piracicamirim. Brites (2002) comparando duas subpopulações de *Phrynops geoffroanus* no rio Uberabinha, sendo uma sob influência agropecuária e outra urbana, observou diferenças quanto ao sexo nos parâmetros: hemoglobina, HCM, CHCM, contagem total de leucócitos e eosinófilos.

Análise Hematológica entre animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim

Hematócrito: Valores considerados normais para répteis em geral, variam de 20 a 40% (CAMPBELL, 2004; FRYE, 1991b; MADER, 2000). Estudos realizados com quelônios sadios de água doce mostram que o valor médio do hematócrito de *Clemmys muhlenbergii* em vida livre foi de 20% e de machos em cativeiro 18,5% (BRENNER et al., 2002); para machos e fêmeas de *Elseya novaeguinae* em vida livre os valores foram de, 40% (variação:29-46) e 32% (variação:26-43), respectivamente (ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997). Não houve diferença entre os animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim (tabela 2.1) e os resultados são considerados normais para animais sadios. Apesar de grande variação nos valores hematológicos em répteis (ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997), em geral hematócrito com valores menores do que 20% sugerem anemia. Valores maiores do que 40% sugerem hemoconcentração ou eritrocitose (CAMPBELL, 2004), o que não parece estar ocorrendo nos animais estudados nessa investigação, considerando-se os valores médios.

Proteína Plasmática Total: A proteína está entre os mais importantes fatores nutricionais na alimentação de animais (JIA et al., 2005). Na literatura há poucos relatos sobre a dieta de *Phrynops geoffroanus* em vida livre. Fachin-Teran; Vogt; Gomes (1995) em estudo realizado no rio Guaporé observaram que os animais eram onívoros, se alimentando de frutos, sementes, insetos e peixe. Dias; Souza (2005) relatam que os animais que habitam o rio Paraná têm dieta preferencialmente carnívora. A dieta dos cágados adultos em um rio poluído no interior do estado de São Paulo, segundo Souza; Abe (2000) é composta principalmente por larvas de Chironomidae. A dieta de *Phrynops geoffroanus* no rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim estão sendo investigados e resultados preliminares têm mostrado que o item predominante é a larva de Chironomidae, corroborando os resultados de Souza; Abe (2000). O fato de não haver diferença entre os resultados de proteína plasmática total (tabela 2.1) entre os rios talvez seja resultado de uma dieta semelhante ou de valores protéicos semelhantes. Os resultados obtidos nos animais na FPZSP, com valores médios mais elevados que os obtidos nos rios, podem ter ocorrido devido a uma maior disponibilidade e regularidade no fornecimento de alimento, com uma dieta composta por carne moída, peixe, frutos e vegetais, sendo que os cágados se alimentam preferencialmente de carne e peixe (LISBOA⁴).

Hemoglobina: A concentração normal de hemoglobina em répteis varia de 6 a 12 g/dL (CAMPBELL, 1996; MADER, 2000). Os resultados obtidos nos dois rios foram semelhantes, porém os valores médios estão ligeiramente abaixo de 6 g/dL (tabela 2.1). Troiano; Silva (1998) encontraram para a tartaruga terrestre Argentina (*Chelonoides chilensis chilensis*), valores médios de hemoglobina de $10 \pm 1,54$ g/dL e $10,4 \pm 1,49$ g/dL para machos e fêmeas, respectivamente. A espécie de água doce *Elseya novaeguinae*, apresentou valor médio para machos, 10 g/dL (variação: 7,2-12,1) e para fêmeas, 8,2 g/dL (variação: 5,9-12,4) (ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997). Brites (2002), descreve valores maiores do que os obtidos nesse trabalho, para *Phrynops geoffroanus* habitando o trecho urbano do rio Uberabinha (machos, valor médio: $7,20 \pm 1,73$, variação: 4,50-10; fêmeas, valor médio: $8,06 \pm 2,02$, variação: 5,20-13,50) e para o trecho agropecuário (machos, valor médio: $9,76 \pm 2,19$, variação: 6,30-14,60; fêmeas, valor médio: $12,71 \pm 3,21$, variação: 7,80-19,80). Há descrições na literatura que um aumento na contagem total de eritrócitos causaria um aumento na concentração de hemoglobina, uma vez que a hemoglobina

---

⁴ LISBOA, C.S. Bióloga responsável pelo Setor de Répteis da Fundação Parque Zoológico de São Paulo. Informação Pessoal, 2007

é o pigmento que ocorre nos eritrócitos dos Testudinata (BRITES, 2002), porém nessa investigação, apesar de haver diferença na contagem total de eritrócitos entre os cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, não houve diferença na concentração de hemoglobina.

Contagem total de eritrócitos: Os resultados encontrados nesse parâmetro hematológico variaram em função do local, onde os animais do rio Piracicaba apresentaram valores maiores do que os cágados do ribeirão Piracicamirim (tabela 2.1). A espécie de quelônio de água doce *Mauremys caspica leprosa*, durante o verão (PAGÉS; PEINADO; VISCOR, 1992), e animais adultos da espécie de tartaruga marinha *Chelonia mydas* (SAMOUR et al., 1998), apresentaram valores médios na contagem total de eritrócitos superiores aos animais do ribeirão Piracicamirim e inferiores aos cágados do rio Piracicaba. Troiano; Silva (1998), observaram para a espécie de quelônio terrestre *Chelonoidis chilensis chilensis*, valores médios maiores que os dois grupos estudados nessa investigação. Brites (2002) encontrou diferença na contagem total de eritrócitos entre os dois grupos de *Phrynops geoffroanus* habitando o rio Uberabinha e atribuiu essa diferença à correnteza da água e às condições físicas, como presença de afloramentos rochosos para os animais assoalharem, sendo que os animais que estavam no ponto onde a correnteza era maior e não havia locais para assoalhar, apresentaram maior valor na contagem total de eritrócitos, além de maior concentração de hemoglobina e hematócrito, sendo atribuída à maior movimentação dos animais e maior consumo de oxigênio. No presente estudo, a diferença encontrada na contagem total de eritrócitos também variou provavelmente em função do regime hidrodinâmico dos corpos d'água, pois no rio Piracicaba, que é um rio de maior volume e maior correnteza (MARTINELLI et al., 1999), os animais apresentaram um número maior de eritrócitos que os animais que habitam o seu afluente, de menor volume, o ribeirão Piracicamirim (OMETO et al., 2000). Apesar desse resultado, parece haver uma compensação quanto ao volume dos eritrócitos devido os valores dos índices hematimétricos.

Contagem total de leucócitos: Foram obtidos valores semelhantes entre os animais dos dois rios. Deem et al. (2006), encontraram valores semelhantes a este estudo, para indivíduos sadios de tartaruga marinha (*Dermochelys coriacea*; valor médio: $5,9 \pm 2,8 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). Brenner et al. (2002), descreveram que o resultado da contagem total de leucócitos foi maior em indivíduos de zoológico do que em animais de vida livre para o quelônio de água doce *Clemmys muhlenbergii*, e os resultados estão acima dos valores descritos nessa investigação (machos de vida livre, valor médio: $7 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; machos de cativeiro, valor médio: $12,5 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). Anderson; Wack;

Hatcher (1997), também encontraram valores maiores para a espécie de água doce *Elseya novaeguinae* (valor médio: $11,3 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). Muro et al. (1998) e Jacobson et al. (1991) estudando espécies de quelônios terrestres, *Testudo graeca graeca* e *Xerobates agassizii*, respectivamente, demonstraram que não houve diferença significativa no número de leucócitos totais entre animais doentes e sadios, com valores maiores do que os resultados obtidos nessa investigação para *Testudo graeca graeca* (doente, valor médio: $7,4 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ e sadio, valor médio: $8,3 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$) e menores para *Xerobates agassizii* (doente, valor médio: $2,3 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ e sadio, valor médio: $3,4 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). Muro et al. (1998) observaram que somente alguns tipos celulares da contagem diferencial de leucócitos foram diferentes entre animais enfermos e saudáveis. Porém Knotkova et al. (2005), relataram valores na contagem total de leucócitos bem acima dos encontrados neste estudo (valor médio: $14,5 \pm 6,4 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$) para uma espécie de quelônio de água doce *Orlitilia borneensis*, apresentando lesões necróticas no casco. Apesar de não haver valores de referência para *Phrynops geoffroanus*, comparando-se com a literatura, os resultados encontrados neste estudo parecem estar dentro de parâmetros normais.

Heterófilos Absolutos: Não houve diferença neste parâmetro entre os animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim. Mader (2000) relata que para répteis sadios, os valores de heterófilos variam entre 30 a 45% na contagem diferencial de leucócitos. Apesar de terem sido descritos neste estudo os valores absolutos de heterófilos, seus valores percentuais médios ficaram em torno de 31% e 32%, para Piracicaba e Piracicamirim, respectivamente, estando dentro dos valores considerados normais. Marks; Citino (1990) e Deem et al. (2006) descreveram valores médios semelhantes a este estudo para contagem de heterófilos absolutos, em animais sadios de *Testudo radiata* e *Dermochelys coriacea*, (valor médio: $2,0 \pm 0,1 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ e valor médio: $2,4 \pm 1,2 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$), respectivamente. Dois trabalhos descrevem a ocorrência de enfermidades em quelônios de vida livre, associada a um aumento no número de heterófilos absolutos. Knotkova et al. (2005) relatam a ocorrência de lesões necróticas no casco do cágado *Orlitilia borneensis* e Joyner et al. (2006) descrevem casos de lesões fúngicas na espécie terrestre *Terrapene carolina carolina*. O valor médio da contagem de heterófilos absolutos para *Orlitilia borneensis* foi de $4,3 \pm 2,4 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$, e $6,14 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ para *Terrapene carolina Carolina*, estando acima dos valores encontrados neste estudo.

Eosinófilos Absolutos: Não houve diferença entre os animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim. Comparando-se os valores médios obtidos nos animais dos rios com os animais da

FPZSP, os resultados dos animais de vida livre parecem estar mais elevados que dos animais de cativeiro. As causas relacionadas ao aumento de eosinófilos absolutos (eosinofilia) reportados em répteis são: sazonalidade, com maiores valores durante a hibernação, parasitismo e estímulos não específicos (MADER, 2000; SYPEK; BORYSENKO, 1988; WILKINSON, 2004). Suspeita-se que o parasitismo possa ser o responsável pelo aumento no número de eosinófilos absolutos nos animais de vida livre nessa investigação. Apesar de não terem sido registrados sistematicamente, houve ocorrência de sanguessugas nos cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, que podem ter elevado o número de eosinófilos absolutos, corroborando com os dados de Glasmann; Holbrook; Bennett (1979), que relataram eosinofilia em aligátors (*Alligator mississippiensis*) infestados por sanguessugas. Brites (2002) relata a ocorrência de ovos de trematóides e larvas de helmintos em achados de necrópsia em *Phrynops geoffroanus*, em trecho de um córrego sob influência urbana. Vieira et al. (2007) também descreve a ocorrência de endoparasitos do gênero *Polystomoides* na cavidade oral de *Phrynops geoffroanus* habitando um lago em Juiz de Fora-MG. Nessa investigação não foi observada a ocorrência de endoparasitos, por outro lado, não foi realizada necrópsia em nenhum animal, e nem houve busca específica por helmintos.

A eosinofilia encontrada nos animais de vida livre, comparando-se com animais de cativeiro, pode não ter caráter patológico e ser uma adaptação ao ambiente poluído em que vivem (BRITES, 2002), pois considerando o exame clínico os animais não apresentam nenhum sinal de enfermidade.

Basófilos absolutos: Não houve diferença entre os animais nos dois corpos d'água e os resultados dos valores médios se assemelham aos animais de cativeiro (tabela 2.1). Vários autores consideram que a variação nesse tipo celular pode chegar de 0 a 40% em relação à contagem diferencial de leucócitos, de répteis em geral (CAMPBELL, 1996; MADER, 2000; SYPEK; BORYSENKO, 1988). Mader (2000) cita que geralmente quelônios apresentam um número mais elevado do que outras espécies de répteis podendo chegar de 50 a 60%, porém sem isso ter relação com alguma doença. Os resultados relativos (%) dos basófilos neste estudo correspondem a aproximadamente 7% nos animais do rio Piracicaba, 8% no ribeirão Piracicamirim e 11% na FPZSP. Brites (2002) encontrou valores muito inferiores para *Phrynops geoffroanus* seja no trecho sob influência agropecuária ou urbana, com valores relativos médios próximos a 1,1%. Segundo Brenner et al. (2002), quelônios sadios de vida livre da espécie de água doce *Clemmys muhlenbergii* apresentaram valores absolutos mais elevados que os reportados nesse estudo (valor

médio: $0,8 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). E Knotkova et al. (2005), encontraram valores bem maiores, porém os quelônios de água doce (*Orlitilia borneensis*) apresentavam lesões necróticas no casco (valor médio: $2,2 \pm 1,9 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$). Devido a essa grande variação nos valores de basófilos absolutos, e pelo fato de não haver uma descrição do perfil hematológico de *Phrynops geoffroanus* sadios em ambiente não poluído, não se sabe se os valores obtidos nessa investigação estão dentro de parâmetros normais, ou se estão com basopenia (diminuição no número de basófilos), assim como os cágados descritos por Brites (2002) e quais seriam suas possíveis causas.

Linfócitos absolutos: Os resultados entre os animais dos dois cursos d'água são semelhantes (tabela 2.1). Os linfócitos geralmente são as células mais prevalentes em répteis, podendo chegar a 80% em algumas espécies, na contagem diferencial de leucócitos (CAMPBELL, 1996; MADER, 2000; SYPEK; BORYSENKO, 1988). Nesta investigação, os linfócitos apresentaram os maiores valores absolutos em relação às outras células. Os valores relativos representaram aproximadamente 42%, no rio Piracicaba e 41% no ribeirão Piracicamirim. Brites (2002), estudando *Phrynops geoffroanus* em um rio poluído com influências urbanas e agrícolas, encontrou valores semelhantes aos obtidos neste estudo. Comparando-se com dados de outras espécies de quelônios de água doce, animais sadios da espécie *Clemmys muhlenbergii*, em cativeiro, apresentaram valores maiores (valor médio de machos: $8,2 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ e valor médio de fêmeas: $3,5 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; BRENNER et al., 2002), e animais enfermos da espécie *Orlitilia borneensis* também tiveram valores mais elevados (valor médio: $5,7 \pm 2,9 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; KNOTKOVA et al., 2005). Quelônios que apresentaram valores menores que os obtidos nesta investigação foram exemplares sadios de tartaruga marinha *Chelonia mydas*, com valor médio de: $0,41 \pm 0,05 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ para fêmeas e $0,36 \pm 0,04 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$ para machos (SAMOUR et al., 1998) e espécimes sadios de tartaruga marinha *Dermochelys coriacea* (valor médio de: $1,6 \pm 0,9 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; DEEM et al., 2006).

Monócitos absolutos: Não houve diferença entre os animais do rio Piracicaba e Piracicamirim, porém os valores médios obtidos na FPZSP estão um pouco acima dos resultados encontrados nos rios. Os monócitos estão presentes em uma variedade de processos inflamatórios, sendo comuns em respostas granulomatosas relacionadas a infecções bacterianas (CAMPBELL, 1996; SYPEK; BORYSENKO, 1988) e processos crônicos (FRYE, 1991a). Comparando-se com outras espécies de quelônios, indivíduos sadios em cativeiro, da espécie terrestre *Testudo radiata* apresentaram valores semelhantes aos animais do rio Piracicaba (valor

médio de: $0,15 \pm 0,02 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; MARKS; CITINO, 1990). Quelônios de água doce, da espécie *Clemmys muhlenbergii*, tiveram valores próximos aos encontrados para os animais da FPZSP (valor médio de: $0,3 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; BRENNER et al., 2002). Valores inferiores aos três sítios amostrais foram observados para indivíduos sadios da espécie de tartaruga marinha *Chelonia mydas* (valor médio de: $0,05 \pm 0,01 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; SAMOUR et al., 1998) e valores superiores (monocitose) foram relatados para espécie terrestre *Terrapene carolina carolina* com infecção fúngica (valor médio de: $0,51 \times 10^3 \text{mm}^{-3}$; JOYNER et al., 2006). Segundo Campbell (1996) e Sypek; Borysenko (1988), valores normais de monócitos, na contagem diferencial de leucócitos em répteis, variam de 0 a 10%. Os valores encontrados nessa investigação correspondem a aproximadamente 6% nos animais da FPZSP, 3% no ribeirão Piracicamirim e 2,5% no rio Piracicaba. Brites (2002) encontrou valores em torno de 1,5% nos indivíduos de *Phrynosoma geoffroanus* provenientes de rio um poluído em Uberlândia-MG. O fato de Brites (2002) ter encontrado valores bem abaixo dos reportados nesse estudo pode ser devido a diferenças na metodologia utilizada na classificação celular, pois Brites (2002) considerou a presença de azurófilos, que para alguns autores é classificado como monócito (SYPEK; BORYSENKO, 1988).

Trombócitos: Houve diferença nos resultados de trombócitos entre os dois sítios amostrais, sendo o valor obtido nos animais do rio Piracicaba maior que os do ribeirão Piracicamirim (tabela 2.1). Os trombócitos de répteis apresentam funções semelhantes às plaquetas de mamíferos sendo importantes na formação de trombos, coagulação sangüínea e cicatrização de feridas (CAMPBELL, 1996; MADER, 2000), além de estarem associados a respostas inflamatórias (RAMOS et al., 2001). Poucos trabalhos na literatura reportam a ocorrência de trombócitos em descrições de perfil hematológico em quelônios e devido a diferenças na metodologia de contagem, torna-se difícil fazer uma comparação entre os dados. Os valores aumentados no número de trombócitos (trombocitose) nos cágados do rio Piracicaba podem ter algum sentido biológico, mas como não há maiores alterações na contagem diferencial de leucócitos e no exame clínico, aparentemente esses animais amostrados estão adaptados ao meio em que vivem.

Índices hematemétricos: Os índices volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM) e concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) estão relacionados ao volume dos eritrócitos e sua concentração de hemoglobina, sendo usados para

classificar morfologicamente as anemias, porém não se referem às suas causas (COLES, 1984). Apesar dos valores de HCM e VCM serem maiores no ribeirão Piracicamirim do que nos animais do rio Piracicaba, os cágados nesse estudo parecem não apresentar sinais de anemia, pois para o seu diagnóstico deve-se avaliar: hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem total de eritrócitos (GARCIA-NAVARRO, 2005) e os resultados desses parâmetros, além de HCM e VCM, estão dentro de valores normais para literatura (ANDERSON; WACK; HATCHER, 1997; BRENNER et al., 2002; SAMOUR et al., 1998). A diferença entre a contagem total de eritrócitos e os índices hematimétricos parecem mostrar um tipo de adaptação dos animais ao ambiente em que vivem, pois os animais do rio Piracicaba têm uma quantidade maior de eritrócitos, porém essas células são menores (VCM), com menor quantidade de hemoglobina por eritrócito (HCM), porém com a mesma porcentagem de hemoglobina por eritrócito (CHCM) que os animais do ribeirão Piracicamirim, estando associada provavelmente a maior movimentação dos cágados, maior consumo de oxigênio e ao regime hidrodinâmico do corpo d'água.

2.4.2 Índice de Estresse

Nessa avaliação, que é representada pela razão entre o valor absoluto de heterófilos pelo valor de linfócito, optou-se por utilizar os animais da FPZSP e os animais dos dois rios para a análise estatística por haver uma base biológica que é o estresse. O cativeiro pode ser uma situação estressante para quelônios (CASE; LEWBART; DOERR, 2005) e sabendo-se que ambientes antropizados podem ser causadores de estresse em outras espécies animais (RUIZ et al., 2002), procurou-se avaliar a razão heterófilo/linfócito entre os cinco grupos que serão discutidos.

Razão Heterófilo/Linfócito (H:L): Pelos resultados obtidos os animais do grupo Zoológico Machos apresentaram os maiores valores, dando indícios que possam ser os animais mais estressados, corroborando que o cativeiro pode ser um estressor para quelônios (CASE; LEWBART; DOERR, 2005). O grupo Piracicamirim Fêmeas apresenta valores iguais aos animais do grupo Zoológico Machos e aos demais grupos também (tabela 2.2), o que poderia ser interpretado com o segundo grupo com maior estresse. E os grupos Piracicamirim Machos, Piracicaba Machos e Piracicaba Fêmeas apresentaram os menores valores da razão heterófilo/linfócito. Nessa investigação esperava-se que um ambiente antropizado poluído

pudesse ser um fator de estresse para a espécie *Phrynops geoffroanus*, porém notou-se que os animais de vida livre habitando dois corpos d'água poluídos, exceto o grupo Piracicamirim Fêmeas, apresentaram menores valores da razão H:L, do que os cágados em cativeiro, na FPZSP (tabela 2.2). Uma interpretação desse resultado poderia ser o fato de haver registro de dados populacionais e reprodutivos dessa mesma espécie de quelônio em um rio urbano poluído em Ribeirão Preto-SP, onde os animais apresentavam elevada biomassa (255-345 kg/ha de rio) e densidade (170-230 cágados/ha de rio) sendo que eles acabam sendo favorecidos nesse tipo de ambiente (SOUZA; ABE, 2000) e, portanto não apresentariam aumento no índice de estresse.

Quanto ao grupo Piracicamirim Fêmeas, pode haver algum fator nesse corpo d'água que esteja influenciando no aumento do índice de estresse apenas em fêmeas, necessitando futuras investigações. Apesar desse resultado, há evidências que as fêmeas estejam se reproduzindo, pela detecção de ovos calcificados no oviduto, pelo estudo reprodutivo em andamento do Projeto “*Phrynops geoffroanus*” (Auxílio à Pesquisa FAPESP- Proc. No. 2005/00210-9).

Mesmo a maioria dos grupos de animais de vida livre em ambiente antropizado apresentando menores valores de H:L que os animais de cativeiro nessa investigação, por não haver valores de referência em animais de vida livre em ambiente prístino, não podemos afirmar que ambos os valores estejam elevados ou diminuídos, apenas demonstrar que há diferença entre os grupos estudados. Apesar de haver diferença estatística entre os grupos, os valores da razão H:L graficamente não parecem mostrar separação entre eles (figura 4).

Avaliando-se o perfil hematológico como um todo, os animais do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim apresentaram eosinofilia (aumento de eosinófilos) e basopenia (diminuição de basófilos) e os animais do rio Piracicaba apresentaram trombocitose (aumento de trombócitos). Os cágados do grupo Zoológico Machos apresentaram maiores valores na razão Heterófilo/Linfócito. Apesar dos resultados encontrados, os dados hematológicos em geral e o exame clínico mostram que a população de cágados do rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim não apresentam sinal de enfermidade e não há indícios que haja um fator que poderia ser responsável por um declínio populacional atualmente.

2.4.3 Considerações ecológicas

A avaliação clínica e os dados hematológicos neste estudo mostram que os animais de vida livre parecem estar saudáveis e sem grandes alterações, vivendo em ambiente antropizado poluído seja no rio Piracicaba ou ribeirão Piracicamirim. Esses resultados poderiam ser um reflexo de dados ecológicos de *Phrynos geoffroanus* observados em outras localidades, como descrito por Souza; Abe (2000; 2001), em estudo realizado em um rio urbano poluído, no interior do estado de São Paulo, onde a espécie apresentava-se abundante, com alimento disponível, tinha indícios reprodutivos pela presença de ovos no oviduto e habitava áreas com ambiente propício à preparação de ninhos. Resultados semelhantes ao obtido por Souza; Abe (2000, 2001), estão sendo encontrados no ribeirão Piracicamirim e rio Piracicaba, em estudos de estrutura populacional, dieta, uso de habitat e biologia reprodutiva (VERDADE⁵). Provavelmente os cágados têm se adaptado à área da bacia do rio Piracicaba, pois o processo de crescimento populacional e industrialização da região têm se intensificado desde a década de 70 (NEGRI, 1992).

Apesar dos resultados obtidos nesta investigação mostrarem que os cágados parecem estar em bom estado de saúde, deve-se considerar questões populacionais desses indivíduos ao longo de gerações. Há relatos de cágados em clima temperado habitando rios urbanos poluídos, que apesar de sua população estar saudável, é composta por indivíduos senis e com baixa taxa de recrutamento (BOWEN; COLBERT; JANZEN, 2004).

Ambientes antropizados podem beneficiar quelônios pela maior oferta de alimento (GIBBONS, 1967, 1970; LINDEMAN, 1996; MOLL, 1980), porém questões relacionadas à falta de áreas para nidificação, desaparecimento de troncos para assoalhar (MITCHELL, 1988; SPINKS et al., 2003), mudança de predadores naturais, presença de estradas, impermeabilização do solo e atropelamentos (BUDISCHAK et al., 2006) devem ser consideradas, pois causam declínio populacional em longo prazo, devido ao baixo recrutamento de novos indivíduos (BOWEN; COLBERT; JANZEN, 2004).

Devido à longevidade e maturidade sexual tardia da maioria de espécies de quelônios, se o habitat próximo ao corpo d'água não é favorável a uma viabilidade populacional de longa

---

⁵ VERDADE, L.M. Coordenador do Projeto *Phrynos geoffroanus*, Laboratório de Ecologia Animal, ESALQ/USP. Informação pessoal, 2007.

duração, declínios populacionais podem passar despercebidos por muitos anos (CONGDON; DUNHAN; VAN LOBEN SELS, 1993; KLEMENS, 2000). Assim, avaliar a taxa de recrutamento deve ser um item a ser observado em estudos populacionais em ambientes antropizados em regiões em desenvolvimento, pois a poluição parece não afetar o estado de saúde de algumas espécies de quelônios.

2.5 Conclusão

Os cágados presentes no ribeirão Piracicamirim e no rio Piracicaba não apresentam nenhum sinal de enfermidade, após a realização do exame clínico e através dos resultados obtidos no hemograma. A diferença entre um rio de maior volume, Piracicaba, e seu afluente Piracicamirim, ambos poluídos e com diferentes históricos de ocupação do solo, pouco influenciaram nas variações dos dados hematológicos do cágado *Phrynops geoffroanus* na bacia do rio Piracicaba.

2.6 Considerações finais

Sugere-se que sejam realizadas investigações como o estudo de perfil hematológico, utilizando a mesma metodologia deste trabalho, com *Phrynops geoffroanus* de vida livre habitando um corpo d'água não poluído; a realização de análises hematológicas que avaliem a bioquímica sanguínea dos cágados *Phrynops geoffroanus* em ambiente antropizado; a realização de estudos populacionais de longa duração e avaliação de taxa de recrutamento em ambientes antropizados poluídos; e que sejam testadas técnicas de enriquecimento ambiental para cágados em cativeiro com o intuito de diminuir o estresse dos animais.

Referências

AGUIRRE, A.A.; BALAZS, G.H.; SPRAKER, T.R.; GROSS, T.S. Adrenal and hematological responses to stress in juvenile green turtles (*Chelonia mydas*) with and without fibropapillomas. **Physiological Zoology**, Chicago, v.68, n.5, p.831-854, 1995.

ANDERSON, N.L.; WACK, R.F.; HATCHER, R. Hematology and clinical chemistry reference ranges for clinically normal, captive new guinea snapping turtle (*Elseya novaeguineae*) and the effects of temperature, sex, and sample type. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.28, n.4, p.394-403, 1997.

BALLESTER, M.V.; MARTINELLI, L.A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; BERNARDES, M.; CAMARGO, P.B. Effects of increasing organic matter loading on the dissolved O², free dissolved CO² and respiration rates in the Piracicaba river basin, southeast Brazil. **Water Research**, Washington, v.33, n.9, p.2119-2119, 1999.

BOLTEN, A.B.; BJORN DAL, K.A. Blood profiles for a wild population of green turtles (*Chelonia mydas*) in the southern Bahamas: size-specific and sex-specific relationships. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence v. 28, n.3, p.407-413, 1992.

BOWEN, K.D.; COLBERT, P.L.; JANZEN, F.J. Survival and recruitment in a human-impacted population of ornate box turtle, *Terrapene ornata*, with recommendations for conservation and management. **Journal of Herpetology**, Salt Lake City, v.38, n.4, p.562-568, 2004.

BRENNER, D.; LEWBART, G.; STEBBINS, M.; HERMAN, D.W. Health survey of wild and captive bog turtles (*Clemmys muhlenbergii*) in North Carolina and Virginia. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.33, n.4, p.311-316, 2002.

BRITES, V.L.C. **Hematologia, bioquímica de sangue, parasitologia, microbiologia, algas epizoárias e histopatologia de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812)(Testudinata, Chelidae), expostos a diferentes influências antrópicas no rio Uberabinha, Minas Gerais.** 2002. 196p. Tese (Doutorado em Ecologia e Recursos Naturais)- Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2002.

BRITES, V.L.C.; RANTIN, F.T. The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha river. **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v.96, p. 273-281, 2004.

BUDSICHAK, S.A.; HESTER, J.M.; PRICE, S.J.; DORCAS, M.E. Natural history of *Terrapene Carolina* (Box Turtles) in an urbanized landscape. **Southeastern Naturalist**, Steuben, v.5, n.2, p.191-204, 2006.

BUHLMANN, K.A.; TUBERVILLE, T.D. Use of passive integrated transponder (PIT) tags for marking small freshwater turtles. **Chelonian Conservation and Biology**, Lawrence, v.3, n.1, p.102-104, 1998.

CAGLE, F.R. A system of marking turtles for future identification. **Copeia**, New York, n.3, p.170-173, Sep, 1939.

CAMPBELL, T.W. Clinical Pathology. In: MADER, D.R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia : W.B. Saunders, 1996. chap.22, p.248-257.

CAMPBELL, T.W. Hematology of Reptiles. In: THRALL, M.A. **Veterinary hematology and clinical chemistry**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004. chap.18, p.259-276.

CASE, B.C.; LEWBART, G.A.; DOERR, P.D. The physiological and behavioural impacts of and preference for an enriched environment in the eastern box turtle (*Terrapene carolina carolina*). **Applied Animal Behaviour Science**, Edinburgh, v.92, p.353-365, 2005.

CHRISTOPHER, M.M.; BERRY, K.H.; WALLIS, I.R.; NAGY, K.A.; HENEN, B.T.; PETERSON, C.C. Reference intervals and physiologic alterations in hematologic and biochemical values of free-ranging desert tortoises in the Mojave Desert. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.35, n.2, p.212-238, 1999.

COLES, E.H. **Patologia Clínica Veterinária**. 3.ed. São Paulo: Editora Manole, 1984. 566 p.

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo - 2000**. São Paulo;CETESB, 2001.227p.(Série Relatórios).

COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL. **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo - 2006**. São Paulo ;CETESB, 2007. 488p. (Série Relatórios).

CONGDON, J.D.; DUNHAN, A.E.; VAN LOBEN SELS, R.C. Delayed sexual maturity and demographics of Blanding's Turtles (*Emydoidea blandingi*): implications for conservation and management of long-lived organisms. **Conservation Biology**, Malden, v.7, n.4, p.826-833, Dec. 1993.

DANIEL, M.H.B.; MONTEBELO, A.A.; BERNARDES, M.C.; OMETTO, J.P.; CAMARGO, P.B.; KRUSHE, A.V.; BALLESTER, M.V.; VICTORIA, R.L.; MARTINELLI, L.A. Effects of urban sewage on dissolved oxygen, dissolved inorganic and organic carbon, and electrical conductivity of small streams along a gradient of urbanization in the Piracicaba river basin. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.136, p.189-206, 2002.

DEEM, S.L.; DIERENFELD, E.S.; SOUNGUET, G.P.; ALLEMAN, A.R.; CRAY, C.; POPPENG, R.H.; NORTON, T.M.; KARESH, W.B. Blood values in free-ranging nesting leatherback sea turtles (*Dermochelys coriacea*) on the coast of the Republic of Gabon. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.37, n.4, p.464-471, 2006.

DIAS, L.C.; SOUZA, F.L. *Phrynops geoffroanus* (Geoffroy's side-necked turtle). DIET. **Herpetological Review**, Salt Lake City, v.36, n.1, p.56-57. 2005.

DIXON, J.R.; YANOSKY, A. A microchip marking system for identification of caiman hatchlings. **Bulletin of the Maryland Herpetological Society**, Baltimore, v.29, n.8, p.156-159, 1999.

ECOAR. Projeto Bacias Irmãs. Histórico da Bacia. Disponível em :
<http://www.baciasirmas.org.br/conheca_pisca_historia.asp>. Acesso em: 16 jun. 2007.

FACHIN-TERAN, A.; VOGT, R.C.; GOMEZ, M.F.S. Food habitats of an assemblage of five species of turtles in the Rio Guapore, Rondônia, Brazil. **Journal of Herpetology**, Salt Lake City, v.29, p. 536-547, 1995.

FERRAZ, E.S.B.; MARTINELLI, L.A.; VICTORIA, R.L. **Coletânea do “Notícias PiraCena”**: a bacia do Rio Piracicaba. Piracicaba: C.N. Editoria, 2001. 182p.

FRYE, F.L. Applied clinical nonhemic parasitology of reptiles. In: _____. **Biomedical and surgical aspects of captive reptile husbandry**. Florida: Krieger, 1991a. p.281-325.

FRYE, F.L. Hematology as applied to clinical reptile medicine. In: _____. **Reptile care: An atlas of diseases and treatments**. Neptune City, New Jersey : T.F.H. Publications, 1991b. p.209-277.

GARCIA-NAVARRO, C.E.K. **Manual de Hematologia Veterinária**. 2.ed. São Paulo: Livraria Varela, 2005. 206 p.

GIBBONS, J.W. Variation in growth rates in three populations of the painted turtle, *Chrysemys picta*. **Herpetologica**, Chicago, v.23, n.4, p.296-303, Dec. 1967.

GIBBONS, J.W. Reproductive dynamics of a turtle (*Pseudemys scripta*) population in a reservoir receiving heated effluent from a nuclear reactor. **Canadian Journal of Zoology**, Toronto, v.48, p.881-885, 1970.

GIBBONS, J.W.; SCOTT, D.E.; RYAN, T.J.; BUHLMANN, K.A.; TUBERVILLE, T.D.; METTS, B.S.; GREENE, J.L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S.; WINNE, C.T. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **Bioscience**, Washington, v.50, n.8, p.653-666, 2000.

GLASSMAN, A.B.; HOLBROOK, T.W.; BENNETT, C.E. Correlation of leech infestation and eosinophilia in alligators. **Journal of Parasitology**, Lancaster, v.65, n.2, p.323-324, 1979.

GRANDE, M.D.; REZENDE, M.O.O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da Bacia do Rio Piracicaba/SP – Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n.5, p.678-686, 2003.

GROSS, W.B.; SIEGEL, H.S. Evaluation of the heterophil/lymphocyte ratio as a measure of stress in chickens. **Avian Diseases**, Ithaca, v. 27, n.4, p.972-979, Oct-Dec.1983.

HART, M.G.; SAMOUR, H.J.; SPRATT, D.M.J.; SAVAGE, B.; HAWKEY, C.M. An analysis of haematological findings on a feral population of alibaba giant tortoises (*Geochelone gigantea*). **Comparative Haematology International**, London, v.1, n.3, p.145-149, Aug. 1991.

JACOBSON, E.R.; GASKIN, J.M.; BROWN, M.B.; HARRIS, R.K.; GARDINER, C.H.; LAPOINTE, J.L.; ADAMS, H.P.; REGGIARDO, C. Chronic upper respiratory tract disease of free-ranging desert tortoises (*Xerobates agassizii*). **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.27, n.2, p.296-316, 1991.

JIA, Y.; YANG, Z.; HAO, Y.; GAO, Y. Effects of animal-protein ratio in extruded and expanded diets on nitrogen and energy budgets of juvenile Chinese soft-shelled turtles (*Pelodiscus sinensis*). **Aquaculture Research**, Oxford, v.36, p.61-68, 2005.

JOYNER, P.H.; SHREVE, A.A.; SPAHR, J.; FOUNTAIN, A.L.; SLEEMAN, J.M. Phaeohyphomycosis in a free-living eastern box-turtle (*Terrapene carolina carolina*). **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.42, n.4, p.883-888, 2006.

KLEMENS, M.W. **Turtle Conservation**. Washington: Smithsonian Institution Press, 2000. 344p.

KNOTKOVA, Z.; MAZANEK, S.; HOVORKA, M.; SLOBODA, M.; KNOTEK, Z. Haematology and plasma chemistry of bornean river turtles suffering from shell necrosis and haemogregarine parasites. **Veterinární Medicína**, Praha, v.50, n.9, p.421-426, 2005.

LAGUEUX, C.J.; BJORNDAL, K.A.; BOLTEN, A.B.; CAMPBELL, C.L. Food Habits of *Pseudemys concinna suwanniensis* in a Florida Spring. **Journal of Herpetology**, Salt Lake City, v.29, n.1, p.122-126, Mar. 1995.

LANCE, V.A.; ELSEY, R.M. Plasma catecholamines and plasma corticosterone following restraint stress in juvenile alligators. **Journal of Experimental Zoology**, Philadelphia, v.283, p.559-565, 1999.

LINDEMAN, P.V. Comparative life history of painted turtles (*Chrysemys picta*) in two habitats in the inland Pacific Northwest. **Copeia**, New York, v.1, p.114-130, 1996.

LÓPES-OLVERA, J.R.; MONTANÉ, J.; MARCO, I.; MARTINEZ-SILVESTRE, A.; SOLER, J.; LAVIN, S. Effect of venipuncture site on hematologic and biochemical parameters in marginated tortoise (*Testudo marginata*). **Journal of Wildlife Disease**, Lawrence, v.39, n.4, p.830-836, 2003.

MADER, D.R. Normal Hematology of Reptiles. In: FELDMAN, B.V.; JAIN, N.C.; ZINKL, J.G. **Schalm's veterinary hematology: veterinary hematology**. 5th ed. Philadelphia : Blackwell Publishing, 2000. chap. 175, p. 1126-1132.

MARKS, S.K.; CITINO, S.B. Hematology and serum chemistry of the radiated tortoise (*Testudo radiata*). **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.21, n.3, p.342-344, 1990.

- MARTINELLI, L.A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; BERNARDES, M.; FERRAZ, E.S.; MORAES, J.M.; BALLESTER, M.C. Effects of sewage on the chemical composition of Piracicaba river, Brazil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht v.110, p.67-79, 1999.
- METIN, K.; TÜRKOZAN, O.; KARGIN, F.; BASIMOGLU KOCA, Y.; TASKAVAK, E.; KOCA, S. Blood cell morphology and plasma biochemistry of the captive European Pond Turtle *Emys orbicularis*. **Acta Veterinaria Brunensis**, Brno, v.75, p.49-55, 2006.
- MITCHELL, J.C. Population ecology and life histories of the freshwater turtles *Chrysemys picta* and *Sternotherus odoratus* in an urban lake. **Herpetological Monographs**, Pittsburgh, v.2, p.40-61, 1988.
- MOLINA, F.B. **Observações sobre a biologia e o comportamento de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) em cativeiro (Reptilia, Testudines, Chelidae)**. 1989. 185p. Dissertação (Mestrado em Zoologia)- Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1989.
- MOLL, D. Dirty river turtles. **Natural History**, New York, v.5, p.42-49, 1980.
- MURO, J.; RAMIS, A.; PASTOR, J.; VELARDE, R.; TARRES, J.; LAVIN, S. Chronic rhinitis associated with herpesviral infection in captive spur-thighed tortoises from Spain. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.34, n.3, p.487-495, 1998.
- NATT, M. P.; HERRICK, G. A. A new blood diluent for counting erythrocytes and leukocytes of the chicken. **Poultry Science**, Ithaca, v. 31, p. 735-738, 1952.
- NEGRI, B. **Urbanização e demanda de recursos hídricos na bacia do rio Piracicaba, no estado de São Paulo**. In: Semana de Debates sobre Recursos Hídricos e Meio Ambiente. Consórcio Piracicaba-Capivari, DAEE, FUNDAP, 1992. p.29.
- OMETTO, J.P.; GESSNER, A.; MARTINELLI, L.A.; BERNARDES, M.C.; KRUSCHE, A.V.; CAMARGO, P.B. Macroinvertebrates community as indicator of land-use changes in tropical watersheds, southern Brazil. **Ecohydrology & Hydrobiology**, Łódz, v.4, n.1, p.35-47, 2004.
- OMETTO, J.P.; MARTINELLI, L.A.; BALLESTER, M.V.; GESSNER, A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; WILLIAMS, M. Effects of land use on water chemistry and macroinvertebrates in two streams of the Piracicaba river basin, Southeast Brazil. **Freshwater Biology**, Oxford, v.44, p.327-337, 2000.
- PAGÉS, T.; PEINADO, V.I.; VISCOR, G. Seasonal changes in hematology and blood chemistry of the freshwater turtle *Mauremys caspica leprosa*. **Comparative Biochemistry and Physiology**, London, v.103A, n.2, p.275-278, 1992.
- RAMOS, M.C.C.; CATÃO-DIAS, J.L.; GAVIOLLE, M.C.; SINHORINI, I.L. Evaluation of the inflammatory response experimentally induced by a foreign body in fresh water turtles (*Trachemys dorbignyi*). **Revista Española de Herpetología**, Madrid, v.15, p.77-83, 2001.

RODRIGUES, M. T. The conservation of Brazilian reptiles: challenges for a megadiverse country. **Conservation Biology**, Malden, v.19, n.3, p.659-664, Jun. 2005.

ROGERS, K.D.; BOOTH, D.T. A method of sampling blood from Australian freshwater turtles. **Wildlife Research**, Victoria, v. 31, p.93-95, 2004.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue: noções práticas sobre corantes pancromáticos e estudo de diversos fatores. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 20, p. 315-328, 1947.

RUIZ, G.; ROSENMANN, M.; NOVOA, F.F.; SABAT, P. Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. **The Condor**, Albuquerque, v.104, p.162-166, 2002.

SAMOUR, J.H.; HOWLETT, J.C.; SILVANOSE, C.; HASBUN, C.R.; AL-GHAIS, S.M. Normal haematology of free-living green sea turtles (*Chelonia mydas*) from the United Arab Emirates. **Comparative Haematology International**, London, v.8, p.102-107, 1998.

SIEGEL, H.S. Physiological stress in birds. **Bioscience**, Washington, v.30, p.529-534, 1980.

SILVESTRE, A.M.; DOMÍNGUEZ, M.A.; MATEO, J.A.; PASTOR, J.; MARCO, I.; LAVÍN, S.; CUENCA R. Comparative hematology and blood chemistry of endangered lizards (*Galottia* species) in the Canary islands. **Veterinary Record**, London, v.155, p.266-269, 2004.

SYPEK, J.; BORYSENKO, M. Reptiles. In: ROWLEY, A. F; RATCLIFFE, N. A. **Vertebrate blood cells**. Cambridge : University Press, 1988. chap.4, p.211-248.

SOUZA, F.L. **Ecologia do cágado *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) em ambiente urbano poluído (Reptilia, Testudines, Chelidae)**. 1999. 52p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas)- Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Rio Claro, 1999.

SOUZA, F.L.; ABE, A.S. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. **Journal of the Zoological Society of London**, London, v.252, p.437-446, 2000.

SOUZA, F.L.; ABE, A.S. Population structure and reproductive aspects of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting an urban river in southeastern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, London, v.36, n.1, p.57-62, 2001.

SPINKS, P.Q.; PAULY, G.B.; CRAYON, J.J.; SHAFFER, H.B. Survival of the western pond turtle (*Emys marmorata*) in an urban California environment. **Biological Conservation**, Liverpool, v.113, p.257-267, 2003.

TOLEDO, A.M.A.; BALLESTER, M.V.R. Variabilidade espaço-temporal do uso e cobertura do solo e a qualidade da água em duas microbacias do Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 10., Foz do Iguaçu, 2001. **Anais...** Foz Do Iguaçu: INPE. p.543-545.

TROIANO, J.C; SILVA, M.C. Valores hematológicos de referencia em tortuga terrestre Argentina (*Cheloides chilensis chilensis*). **Analecta Veterinaria**, La Plata, v.18,1/2, p.47-51, 1998.

VIEIRA, F.M.; NOVELLI, I.A.; SOUSA, B.M.; LIMA, S.S. Parasitismo por *Polystomoides* sp. Ward, 1917 (Monogenea, Polystomatidea) em cavidade bucal e faríngea de *Phrynops geoffroanus* (Schweigger, 1812) (Testudines, Chelidae) no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE HERPETOLOGIA, 3., 2007, Belém. **Resumos...** Belém: Sociedade Brasileira de Herpetologia, 2007.

WILKINSON, R. Clinical pathology. In: _____ **Medicine and surgery of tortoises and turtles**. Oxford: Blackwell Publishing, 2004. p.141-155.

WORK, T.M.; BALAZS, G.A. Relating tumor score to hematology in green turtles with fibropapillomatosis in Hawaii. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.35, n.4, p.804-807, 1999.

YOUNG, A.F. **Análise comparativa da qualidade e zoneamento ambiental de duas microbacias urbano-rurais: uma contribuição metodológica**. 2000. 57p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

ZAGO, C.E.S.; VIZOTTO, L.D.; OLIVEIRA, C.; BONINI-DOMINGOS, C.R. Valores de normalidade da série vermelha para *Phrynops geoffroanus* (Testudine:Chelidae), de cativeiro. In: CONGRESSO DA SOCIEDADE PAULISTA DE ZOOLOGICOS, 10., 2005. São Vicente, 2005. **Anais...** Americana: Sociedade Paulista de Zoológicos, 2005. 1 v.

3 *Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) em ambiente antrópico: microbiota oral

Resumo

Doenças infecciosas bacterianas podem estar relacionadas a declínios populacionais em répteis. Muitas vezes, bactérias oportunistas que fazem parte da flora normal dos animais, em condições de estresse e baixa de imunidade podem ser responsáveis por infecções. Entre os anos de 2006 e 2007 foram capturados quelônios da espécie *Phrynops geoffroanus* na bacia do rio Piracicaba, com o objetivo de determinar a microbiota bacteriana oral e avaliar a patogenicidade das bactérias tanto para os animais quanto para o homem. Foram capturados animais em dois corpos d'água poluídos, o rio Piracicaba (n=10) e seu afluente, o ribeirão Piracicamirim (n=8). As amostras foram incubadas a temperatura de 25 e 37° C. Houve crescimento de 29 espécies de bactérias na cavidade oral dos cágados no rio Piracicaba e 24 nos animais do ribeirão Piracicamirim, sendo a maioria delas gram-negativas, em ambos os sítios amostrais. Bactérias como *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus* sp cresceram nos cágados de ambos os rios e estão associadas a lesões em répteis. *Escherichia coli* foi a bactéria mais isolada nos animais a temperatura de 37° C, e há relatos de serem responsáveis por infecções tanto em quelônios, como em seres humanos. *Aeromonas hydrophila* foi isolada em animais no ribeirão Piracicamirim e é considerado um patógeno oportunista, estando envolvida em inúmeras infecções em quelônios. Apesar do isolamento de bactérias patogênicas na cavidade oral de *Phrynops geoffroanus* na bacia do rio Piracicaba, não há sinais de infecção aparente nos mesmos. Futuras alterações ambientais, que possam causar queda da imunidade nos animais poderiam favorecer o aparecimento de infecções, em vista do isolamento de bactérias potencialmente patogênicas para répteis. Algumas bactérias isoladas neste estudo apresentam potencial zoonótico, porém a espécie não é comumente utilizada como animal de estimação nem para fins alimentares. Recomenda-se o estudo de microbiota bacteriana cloacal, caso a espécie seja utilizada pela população.

Palavras-chave: Quelônio; Poluição; Microbiologia; Patogenicidade, Zoonoses

***Phrynops geoffroanus* (Testudines, Chelidae) in anthropogenic environment: oral microbiota**

Abstract

Bacterial infectious diseases can be related with reptiles' population declines. Several times, opportunistic bacteria that belong to the regular bacterial flora, in cases of stress and low immunity responses can be responsible for infection. During 2006 and 2007 it was captured individuals of *Phrynops geoffroanus* at Piracicaba River Basin, with the goal of describing the oral microbiota and evaluate the pathogenicity of the bacterium for the turtles and human beings. It was captured animals in two polluted bodies of water, the Piracicaba river (n=10) and its tributary, the Piracicamirim stream (n=8). The samples were incubated at 25 and 37° Celsius. The results showed growth of 29 species of bacteria in Piracicaba turtles' oral cavity and 24 in Piracicamirim turtles, being most of them gram-negatives, in both study sites. Bacterium like

Klebsiella pneumoniae, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Bacillus* sp were detected in turtles in both rivers and these bacterium are associated with reptile's lesions in the literature. *Escherichia coli* was the most common isolate in turtles at 37° C, and there are cases of being responsible for infection in turtles and humans. *Aeromonas hydrophila* was isolated in Piracicamirim's animals and it is considered an opportunistic pathogen, being involved in several chelonians infections. Although it was isolated pathogenic bacterium in *Phrynops geoffroanus*' oral cavity, there are no signs of apparent infection. Habitat perturbations in the future that could be responsible for a reduce in the immune system activity, could favor infections due to the isolation of potential pathogens for reptiles in this study. Some bacterium isolated in this survey show a zoonotic potential, however *Phrynops geoffroanus* is not commonly used as a pet or for food purposes. We suggest a cloaca microbiota investigation if people start to use the species for one of those reasons.

Keywords: Turtle; Pollution; Microbiology, Pathogenicity, Zoonosis

3.1 Introdução

Ambientes antropizados poluídos vem sendo utilizados há algum tempo por espécies de quelônios aquáticos na América do Norte (GIBBONS, 1967; LINDEMAN, 1996; MITCHELL, 1988; MOLL, 1980). No Brasil, o registro da presença de *Phrynops geoffroanus* em rios urbanos poluídos é recente (BRITES; RANTIN, 2004; SOUZA; ABE, 2000, 2001) e há evidências que esta espécie de cágado é beneficiada neste tipo de habitat pela abundância de itens alimentares, falta de predadores naturais e aumento na disponibilidade de áreas para nidificação (SOUZA; ABE, 2000).

Se para algumas espécies de répteis a degradação de habitat e a poluição as favorecem, para outras, esses fatores estão entre suas principais causas de declínio populacional (GIBBONS et al., 2000; RODRIGUES, 2005). Doenças infecciosas bacterianas também estão relacionadas a declínios populacionais em répteis, como por exemplo, a Doença do Trato Respiratório Superior causada pela bactéria *Mycoplasma agassizii*, em tartaruga do deserto *Gopherus agassizii* (BROWN et al., 1994; GIBBONS et al., 2000). Em tartarugas marinhas de vida livre e cativeiro, infecções bacterianas são comuns e podem estar associadas a lesões traumáticas e causarem morte (GLAZEBROOK; CAMPBELL, 1990a; ORÓS et al., 2005; WILES; RAND, 1987). Em muitos casos, bactérias oportunistas que fazem parte da flora normal dos animais, em condições de estresse e baixa de imunidade podem ser responsáveis por infecções (SANTORO et al., 2006).

Assim, o conhecimento da flora bacteriana pode ser uma importante ferramenta na compreensão do papel de bactérias como agentes patogênicos em quelônios (SANTORO et al., 2006).

Sabendo-se que ambientes antropizados estão sujeitos a diversas transformações (DASZAK; CUNNINGHAM; HYATT, 2001), como por exemplo, a contaminação por produtos químicos (SABA; SPOTILA, 2003) e que para algumas espécies animais, ambientes alterados podem levar a baixa de imunidade (RUIZ et al., 2002), este estudo teve como objetivo determinar a microbiota bacteriana oral do cágado *Phrynops geoffroanus* em dois corpos d'água poluídos, na bacia rio Piracicaba e avaliar a patogenicidade das bactérias tanto para os animais quanto para o homem.

3.2 Material e Métodos

3.2.1 Área de Estudo

3.2.1.1 Rio Piracicaba

A bacia do rio Piracicaba (12.400 km²) está localizada na porção sudeste do Estado de São Paulo. Ela é formada por três sub-bacias: rio Jaguari, rio Atibaia e rio Piracicaba. Estes corpos d'água se deslocam de leste para oeste, percorrendo uma distância de aproximadamente 350 km, desaguando no rio Tietê, sendo este um tributário do rio Paraná (KRUSCHE et al., 1997).

Essa região, com uma população de aproximadamente 2.960.000 habitantes, é um verdadeiro modelo de "bacia desenvolvida", abrangendo 61 municípios (GRANDE; REZENDE; ROCHA, 2003). De acordo com Cetesb (2001), as principais atividades industriais da bacia são: papel e celulose, alimentícia, indústrias do ramo sucro-alcooleiro, têxtil, curtumes, metalúrgicas, químicas e refinaria de petróleo. As principais culturas agrícolas que ocupam a região da bacia são: cana-de-açúcar, cítricos e pastagens (KRUSCHE et al., 1997).

Apesar de 92% das residências apresentarem serviço de esgoto (KRUSCHE et al., 1997), apenas 16% do esgoto doméstico produzido é tratado e como consequência, a maioria dos rios da bacia possuem suas características alteradas em função da alta carga de esgoto doméstico e

industrial despejado em suas águas (BALLESTER et al., 1999; DANIEL et al., 2002; MARTINELLI et al., 1999).

A coleta de animais foi realizada em um trecho de 2 km no rio Piracicaba, tendo como ponto referencial a Ponte Coopersucar (22°41'75"S 47°33'58"W), que está a aproximadamente 4 km da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, na cidade de Piracicaba-SP (figura 1). Este sítio amostral está situado na região central da bacia do rio Piracicaba, que corresponde a 20% da área total da bacia, mas que produz mais de 50% dos efluentes domésticos e industriais (DANIEL et al., 2002; MARTINELLI et al., 1999).

3.2.1.2 Ribeirão Piracicamirim

O ribeirão Piracicamirim é um tributário do rio Piracicaba e sua microbacia apresenta uma área de 133 km² (OMETTO et al., 2000). A região abriga uma população de 95 mil habitantes, localizada nos municípios de Piracicaba, Rio das Pedras e Saltinho (TOLEDO; BALLESTER, 2001). A área é caracterizada por extremas perturbações devido à ocupação urbana não planejada e devido à indústria da cana de açúcar. As plantações ocupam mais 80% da área, sendo que o rio apresenta uma cobertura de mata ciliar em apenas 2% de seu curso (OMETO et al., 2004).

O ribeirão Piracicamirim possui uma extensão de 24,6 km desde suas cabeceiras até sua foz, no rio Piracicaba e tem em média 4,26m de largura e 1,56m de profundidade (OMETTO et al., 2000), sendo que seu trecho final, abrange uma porção do município de Piracicaba e está numa região de elevada urbanização (OMETO et al., 2004).

Em 1985, o ribeirão Piracicamirim era considerado como o mais poluído afluente do rio Piracicaba. Apesar da construção, em 1997, da Estação de Tratamento de Esgoto (ETE) Piracicamirim, que permitiu avançar rumo à despoluição do córrego, o corpo d'água ainda é considerado poluído (BALLESTER et al., 1999; ECOAR, 2007). Suas principais fontes de poluição são lançamentos de esgotos clandestinos e insumos químicos das plantações de cana-de-açúcar (OMETO et al., 2004).

A coleta de animais no ribeirão Piracicamirim (22°42'51"S 47°37'36"W) foi realizada próximo ao Departamento de Entomologia, dentro do Campus da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, da Universidade de São Paulo, na cidade de Piracicaba. O ponto de coleta no ribeirão está situado abaixo do ponto de coleta no rio Piracicaba (figura 1).

Figura 1- Bacia hidrográfica do rio Piracicaba e microbacia do ribeirão Piracicamirim. Em destaque (setas) os pontos de coleta nos 2 corpos d'água (Fonte: adaptado de www.cena.usp.br/piracena)

Figura 2- Sítios amostrais: a) Ribeirão Piracicamirim, b) Rio Piracicaba

3.2.2 Captura

Os exemplares foram capturados no rio Piracicaba, no trecho próximo a Ponte Coopersucar, através do método de busca ativa (LAGUEUX et al., 1995), durante o dia e a noite, com uso de puçás, faroletes e barco motorizado. As capturas para análises microbiológicas neste sítio amostral ocorreram entre agosto de 2006 e junho de 2007.

A captura dos quelônios no ribeirão Piracicamirim foi feita através do uso de quatro redes de pesca (nylon; malha três a cinco cm; dois metros de altura) que foram estendidas e fixadas nas margens do ribeirão (SOUZA; ABE, 2000), durante o dia. A cada 3 horas as redes eram vistoriadas com uso de barco a remo. As coletas nesse corpo d'água ocorreram entre abril de 2006 e agosto de 2007.

3.2.3 Análises microbiológicas

Os animais capturados no rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim foram acondicionados em caixas plásticas e trazidos para o Laboratório de Ecologia Animal, na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, em Piracicaba-SP. Após a marcação e identificação dos animais foi realizada a coleta de material para análise microbiológica, que consistiu em abrir a cavidade oral dos cágados com auxílio de bastão metálico esterilizado com álcool etílico 70% e introduzir um “swab” (CB Products®, meio de cultivo Amies), realizando movimentos rotatórios por 15 segundos (figura 3).

Figura 3- Coleta de material microbiológico com uso de “swab”

As amostras foram mantidas refrigeradas e encaminhadas no dia seguinte, em recipiente de isopor com gelo artificial, inicialmente para o Laboratório de Patologia Comparada de Animais Silvestres. Posteriormente foi utilizado o Laboratório de Doenças Infecciosas (Bacteriologia e Micologia), ambos pertencentes à Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, na cidade de São Paulo-SP, para cultivo e identificação microbiológica.

No laboratório, com intuito de pesquisar bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas, os “swabs” foram inicialmente inoculados em caldo BHI (Brain and heart infusion broth) com incubação a 37°C e paralelamente a 25°C por 24 horas. As amostras também foram semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) e ágar MacConkey, com incubação em aerobiose a 37°C e paralelamente a 25°C, com leituras em 24-96 horas.

As amostras cultivadas em caldo BHI foram posteriormente semeadas em ágar sangue de carneiro (5%) e ágar MacConkey, com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

Visando a pesquisa de *Staphylococcus* spp os “swabs” foram inoculados em ágar Baird-Parker e incubados a 37°C por 24-48 horas.

Para a pesquisa de *Salmonella* spp os “swabs” foram inoculados em caldo tetracionato, incubados a 37°C por 24 horas. Paralelamente as amostras também foram semeadas em ágar verde brilhante e ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4), com incubação em aerobiose a 37°C com leituras a 24-96 horas. Após a incubação as amostras inoculadas em caldo tetracionato foram semeadas em ágar verde brilhante e ágar xilose-lisina-tergitol 4 (XLT4), com incubação destas realizada de forma similar à descrita anteriormente para o cultivo inicial.

Os microrganismos isolados foram identificados de acordo com LENNETTE; HANSLER; SHADOMY (1985) e classificados segundo KRIEG; HOLT (1994) e MURRAY et al. (1999).

3.3 Resultados

3.3.1 Captura

Foram capturados 10 animais, sendo dois machos e oito fêmeas para os estudos microbiológicos no rio Piracicaba. No ribeirão Piracicamirim, capturou-se oito indivíduos, sendo cinco machos, duas fêmeas e um imaturo.

3.3.2 Análises Microbiológicas

Não houve separação dos resultados em relação ao sexo, devido ao baixo número amostral e pela desproporção entre os sexos dos animais capturados. Não foi quantificado o número de colônias de bactérias por amostra, sendo utilizado a presença das espécies de bactérias em função da temperatura de incubação e do local de coleta (tabela 3.1).

Tabela 3.1- Bactérias presentes na cavidade oral de cágados *Phrynops Geoffroyanus* no rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, incubados a temperatura de 25° e 37° C e a quantidade de indivíduos acometidos

Bactérias	Rio Piracicaba (n*=10)		Ribeirão Piracicamirim (n=8)	
	25°C	37°C	25°C	37°C
Cocos Gram-Positivos				
<i>Staphylococcus sciuri</i>	1	-	-	-
<i>Staphylococcus lentus</i>	1	-	-	-
<i>Staphylococcus caseolyticus</i>	1	-	-	-
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	-	1	-	-
<i>Staphylococcus capitis</i>	-	1	-	-
<i>Staphylococcus warneri</i>	-	1	-	-
<i>Staphylococcus kloosii</i>	-	-	1	-
<i>Micrococcus</i> sp	2	5	-	1
<i>Enterococcus faecium</i>	-	1	-	-
Bacilos Aeróbios Gram-positivos				
<i>Bacillus</i> sp	2	5	2	4
<i>Bacillus sphaericus</i>	-	-	-	1
<i>Corynebacterium xerosis</i>	-	-	-	1
Bacilos Gram-negativos				
<i>Aeromonas sobria</i>	4	2	-	-
<i>Aeromonas caviae</i>	2	2	1	1
<i>Aeromonas veronii</i>	-	1	-	-
<i>Aeromonas hydrophila</i>	-	-	2	-
<i>Aeromonas</i> sp	1	-	-	-
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	-	1	-	-
Enterobactérias Gram-negativas				
<i>Klebsiella oxytoca</i>	4	4	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	-	1
<i>Klebsiella ozaenae</i>	-	2	1	4
<i>Klebsiella rhinoscleromatis</i>	-	1	-	2
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	-	1	2
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	-	1	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	-	1	-	1
<i>Escherichia blattae</i>	1	-	-	-
<i>Escherichia coli</i>	-	6	1	5
<i>Escherichia hermannii</i>	-	-	-	1
<i>Escherichia fergusonii</i>	-	-	-	1
<i>Citrobacter freundii</i>	-	3	-	1
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	-	4	1	2
<i>Edwardsiella tarda</i>	-	4	1	2
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	-	3	-	2
<i>Serratia marcescens</i>	-	1	-	-
<i>Buttiauxella brennerae</i>	-	-	-	1
<i>Khuyvera cocheae</i>	-	-	-	1
Bacilo Gram-negativo não fermentador				
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	4	4	4	1
<i>Shewanella</i> sp	1	1	-	-

* O n na tabela corresponde ao número de animais capturados em cada corpo d'água

Houve crescimento de 29 espécies de bactérias na cavidade oral dos cágados do rio Piracicaba e 24 nos cágados do ribeirão Piracicamirim. Em relação à coloração de Gram, no rio Piracicaba, nove eram gram-positivas e 20 gram-negativas. No ribeirão Piracicamirim, cinco eram gram-positivas e 19 gram-negativas.

Houve crescimento de 15 espécies de bactérias tanto no rio Piracicaba como no ribeirão Piracicamirim. Em relação à temperatura de incubação, no rio Piracicaba, seis espécies de bactérias cresceram a 25°C, dez cresceram a 37°C e 13 cresceram tanto a 25°C como a 37°C. No ribeirão Piracicamirim três espécies de bactérias cresceram a 25°C, 12 cresceram a 37°C e nove cresceram a 25°C e a 37°C.

As bactérias que cresceram a 25°C no rio Piracicaba, em um maior número de animais foram: *Aeromonas sobria*, *Klebsiella oxytoca* e *Acinetobacter lwoffii* (ambas em 4/10 ou 40% dos animais). E na temperatura de 37°C foram: *Escherichia coli* (6/10 ou 60%), *Micrococcus* sp (5/10 ou 50%), *Bacillus* sp (5/10), *Klebsiella oxytoca* (4/10 ou 40%), *Citrobacter amalonaticus* (4/10), *Edwardsiella tarda* (4/10), *Acinetobacter lwoffii* (4/10), *Klebsiella pneumoniae* (3/10 ou 30%), *Citrobacter freundii* (3/10), *Edwardsiella hoshinae* (3/10).

No ribeirão Piracicamirim *Acinetobacter lwoffii* (4/8 ou 50%), *Bacillus sphaericus* (2/8 ou 25%) e *Aeromonas hydrophila* (2/8) foram às bactérias que cresceram em maior número de animais a 25°C. Na temperatura de 37°C as mais comuns foram: *Escherichia coli* (5/8 ou 62,5%), *Klebsiella ozaenae* (4/8 ou 50%), *Bacillus* sp (4/8) e em 2/8 ou 25% dos animais, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter amalonaticus*, *Edwardsiella tarda* e *Edwardsiella hoshinae*.

3.4 Discussão

A microbiota bacteriana oral de animais pode ser um reflexo do meio em que os animais vivem (ROSENTHAL; MADER, 1996; SANTORO et al., 2006). Sendo o rio Piracicaba, o corpo d'água receptor, e seu afluente, o ribeirão Piracicamirim, ambos poluídos e com uso e ocupação de solos diferentes, a ocorrência e a quantidade de espécies de bactérias na cavidade oral do cágado *Phrynops geoffroanus* pode ter sido influenciada pelo habitat dos animais. Porém, não foi realizado nesta investigação um estudo sobre as bactérias presentes nos dois corpos d'água para elucidar a influência do ambiente na composição da microbiota oral dos animais.

As duas temperaturas de incubação, utilizadas em função dos animais serem ectotérmicos revelaram crescimento de bactérias tanto em uma, como nas duas temperaturas. A maioria das bactérias nos dois grupos de animais estudados cresceu nas duas temperaturas e as que cresceram em apenas uma temperatura pode ter sido em função de alguma especificidade da bactéria ou devido a um erro na preparação da amostra (GOLDSTEIN et al., 1981).

Na temperatura de 37°C, *Escherichia coli* foi mais frequentemente isolada nos animais tanto no rio Piracicaba como no Piracicamirim. Esta bactéria foi associada a diversas lesões na espécie de tartaruga marinha *Caretta caretta* nas Ilhas Canárias, como esofagite, enterite, perihepatite, esplenite e abscessos renais (ORÓS et al., 2005). Já na *Chelonia mydas*, outra espécie marinha criada em cativeiro na Austrália, *Escherichia coli* esteve associada a casos de broncopneumonia (GLAZEBROOK; CAMPBELL, 1990a). Raidal et al. (1998) atribui o isolamento de *E. coli* em infecções nesta mesma espécie como provavelmente sendo de origem ambiental. No presente estudo, em função dos rios estudados apresentarem contaminação com esgoto doméstico não tratado (MARTINELLI et al., 1999; OMETO et al., 2004) é possível que a presença de *E. coli* também seja de origem ambiental.

Das bactérias comuns aos animais nos dois corpos d'água, algumas delas estão associadas a algum tipo de infecção bacteriana em répteis, como: *Bacillus* sp presente em pneumonia, esplenite e enterite (ORÓS et al., 2005), *Citrobacter freundii* ocorrendo em lesões hepáticas e pulmonares (RAIDAL et al., 1998) e em lesões cutâneas ulcerativas (JACKSON; FULTON, 1970), *Klebsiella pneumoniae* em pneumonia (ROSENTHAL; MADER, 1996), *Enterobacter agglomerans* em dermatite e estomatite (NOVAK; SEIGEL, 1986) e *Micrococcus* sp em abscessos subcutâneos (BOAM et al., 1970).

Aeromonas hydrophila foi isolada apenas em animais do ribeirão Piracicamirim e a 25°C. Esta bactéria considerada um patógeno oportunista (ORÓS et al., 2005) está envolvida em inúmeras infecções em quelônios. Pasquale et al. (1994) descreve a ocorrência de um surto de *Aeromonas hydrophila* na espécie *Pseudemys scripta*, em animais mantidos em cativeiro na Itália, onde 95 de 100 animais (95%) morreram de infecção aguda em 10 dias. Em *Caretta caretta* encontradas nas Ilhas Canárias, *A. hydrophila* estava associada a lesões como: dermatite ulcerativa, pneumonia, pleurite, esplenite, abscessos renais, esofagite, hepatite e miosite (ORÓS et al., 2005). E em *Chelonia mydas* mantidas em cativeiro, *A. hydrophila* foi associada a

broncopneumonia, septicemia, rinite, estomatite ulcerativa e dermatite ulcerativa traumática (GLAZE BROOK; CAMPBELL, 1990a).

Os resultados das análises microbiológicas indicam que as bactérias presentes na cavidade oral dos cágados em ambos os rios apresentam potencial patogênico, apesar dos animais estarem saudáveis e não apresentarem sinal aparente de infecção. O impacto da presença de bactérias patogênicas em quelônios que habitam rios urbanos poluídos não é bem conhecido, por outro lado a presença de bactérias patogênicas nos tecidos dos animais não é sinônimo de doença devendo-se considerar seu possível potencial patogênico em função de inúmeras condições de estresse, que podem contribuir no desencadeamento de infecções (SANTORO et al., 2006), como imunossupressão (DICKINSON et al., 2001; SANTORO; ORREGO; GOMÉZ; 2006; SANTORO et al., 2006) e trauma (JACKSON; FULTON; JACKSON, 1972; ORÓS et al., 2005).

Em muitos casos não é a presença de uma única bactéria que determina uma infecção, mas vários agentes causais. Jackson; Fulton; Jackson (1972) descrevem uma infecção no pescoço na espécie de quelônio terrestre *Terrapene carolina*, com a presença de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Proteus morgani*, *Proteus rettgeri* e *Pseudomonas*. Wiles; Rand (1987), encontraram em lesões de pele de *Caretta caretta* mantida em cativeiro, *Acinetobacter calcoaceticus* var Lwoffii, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio parahaemolyticus* e linhagens de *Acinetobacter*-like, *Pasteurella*-like, *Proteus*-like e *Salmonella*-like.

Além disso, em quelônios de vida livre, as infecções bacterianas geralmente ocorrem concomitantemente com outras afecções, como infecções parasitárias por trematódeos em *Chelonia mydas* (GLAZE BROOK; CAMPBELL, 1990b; RAIDAL et al., 1998) e *Eretmochelys imbricata* (GLAZE BROOK; CAMPBELL, 1990b) e em *Chelonia mydas* acometidas com fibropapilomatose (WORK et al., 2003).

Em função das inúmeras causas associadas a infecções bacterianas, futuras alterações em um ambiente já degradado e que possam levar a imunossupressão ou alguma outra alteração na biologia e no estado de saúde da espécie *Phrynops geoffroanus*, pode haver a possibilidade de ocorrência de infecções bacterianas, de acordo com o isolamento das bactérias potencialmente patogênicas neste estudo. Assim, estudos de longa duração são essenciais para avaliar o estado de saúde e o tamanho populacional desses animais longevos em ambientes antropizados (BUDISCHAK et al., 2006).

A contaminação de pessoas com bactérias patogênicas através do contato com quelônios mantidos como animais de estimação é descrita na literatura, sendo muito comum a infecção por *Salmonella* (LYNCH et al., 1999; WARD, 2000; WOODWARD; KHAKHRIA; JOHNSON, 1997). McCOY; SEIDLER (1973) recomendam precaução não apenas com *Salmonella*, mas outros gêneros de bactérias como *Aeromonas*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Citrobacter* e *Proteus* isoladas em *Trachemys scripta elegans*, conhecido popularmente como tigre d'água, espécie de quelônio muito utilizado como animal de estimação. Há casos também de infecção bacteriana em humanos pelo consumo de carne e ovos de quelônios (AGUIRRE et al., 2006; CAMPOS et al., 1996)

Algumas bactérias isoladas a 37°C nesse estudo, nos animais de ambos os rios, estão envolvidas em casos de infecções humanas. *Escherichia coli* (ERICSSON, 2003; SINCLAIR et al., 2005) e *Aeromonas caviae* (ASCENCIO et al., 1998) foram responsáveis por quadros de gastroenterite. *Klebsiella oxytoca* e *Enterobacter cloacae* em septicemias em pacientes com câncer (WATSON et al., 2005), *Citrobacter freundii* em infecções biliares (NADA et al., 2004) e *Edwardsiella tarda* em infecções no aparelho reprodutor feminino (MIKAMO et al., 2003; PIEN; JACKSON, 1995).

Apesar dos resultados indicarem a presença de bactérias com potencial zoonótico, a espécie de cágado *Phrynops geoffroanus* não é utilizada como animal de estimação e também não é comumente usada para fins alimentares. Caso esse animal venha a ser utilizado futuramente pela população, recomenda-se também o estudo da microbiota cloacal, pois pode haver diferença na composição das bactérias na região oral e cloacal de quelônios e as bactérias presentes na cloaca também podem ser patogênicas (DICKINSON et al., 2001).

3.5 Conclusão

Os cágados capturados no rio Piracicaba e ribeirão Piracicamirim, sendo o receptor e afluente respectivamente, apresentaram crescimento em sua cavidade oral de bactérias patogênicas, tanto para répteis como para humanos, porém não há sinal de infecção nos animais.

Referências

- AGUIRRE, A.A.; GARDNER, S.C.; MARSH, J.C.; DELGADO, S.G.; LIMPUS, C.J.; NICHOLS, W.J. Hazards associated with the consumption of the sea turtle meat and eggs: a review for health care workers and the general public. **EcoHealth**, New York, v.3, p.141-153, 2006.
- ASCENCIO, F.; MARTINEZ-ARIAS, W.; ROMERO, M.J.; WADSTROM, T. Analysis of the interaction of *Aeromonas caviae*, *A. hydrophila* and *A. sobria* with mucins. **Immunology and Medical Microbiology**, Amsterdam, v.20, p.219-229, 1998.
- BALLESTER, M.V.; MARTINELLI, L.A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; BERNARDES, M.; CAMARGO, P.B. Effects of increasing organic matter loading on the dissolved O₂, free dissolved CO₂ and respiration rates in the Piracicaba river basin, southeast Brazil. **Water Research**, Washington, v.33, n.9, p.2119-2119, 1999.
- BOAM, G.W.; SANGER, V.L.; COWAN, D.F.; VAUGHAN, D.P. Subcutaneous abscesses in Iguanid Lizards. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, Schaumburg, v.157, n.5, p.617-618, 1970.
- BRITES, V.L.C.; RANTIN, F.T. The influence of agricultural and urban contamination on leech infestation of freshwater turtles, *Phrynops geoffroanus*, taken from two areas of the Uberabinha river. **Environmental Monitoring and Assessment**, Maine, v.96, p. 273-281, 2004.
- BROWN, M.B.; SCHUMACKER, I.M.; KLEIN, P.A.; HARRIS, K.; CORRELL, T.; JACOBSON, E.R. *Mycoplasma agassizii* causes Upper Respiratory Tract Disease in the desert tortoise. **Infection and Immunity**, Bethesda, v.62, n.10, p.4580-4586, Oct. 1994.
- BUDISCHAK, S.A.; HESTER, J.M.; PRICE, S.J.; DORCAS, M.E. Natural history of *Terrapene carolina* (Box Turtles) in an urbanized landscape. **Southeastern Naturalist**, Steuben, v.5, n.2, p.191-204, 2006.
- CAMPOS, E.; BOLAÑOS, H.; ACUÑA, M.T.; DÍAZ, G.; MATAMOROS, M.C.; RAVENTÓS, H.; SÁNCHEZ, L.M.; SÁNCHEZ, O.; BARQUERO, C. *Vibrio mimicus* Diarrhea following ingestion of raw turtle eggs. **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v.62, n.4, p.1141-1144, Apr.1996.
- COMPANHIA DE TECNOLOGIA DE SANEAMENTO AMBIENTAL; **Relatório de qualidade das águas interiores do estado de São Paulo - 2000**. São Paulo; CETESB, 2001. 227p. (Série Relatórios).

DANIEL, M.H.B.; MONTEBELO, A.A.; BERNARDES, M.C.; OMETTO, J.P.; CAMARGO, P.B.; KRUSHE, A.V.; BALLESTER, M.V.; VICTORIA, R.L.; MARTINELLI, L.A. Effects of urban sewage on dissolved oxygen, dissolved inorganic and organic carbon, and electrical conductivity of small streams along a gradient of urbanization in the Piracicaba river basin. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht v.136, p.189-206, 2002.

DASZAK, P.; CUNNINGHAM, A.A.; HYATT, A.D. Anthropogenic environmental changes and the emergence of infectious diseases in wildlife. **Acta Tropica**, Basel, v.78, p.103-116, 2001.

DICKINSON, V.M.; DUCK, T.; SCHWALBE, C.R.; JARCHOW, J.L.; TRUEBLOOD, M.H. Nasal and cloacal bacteria in free-ranging desert tortoises from the Western United States. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.37, n.2, p.252-257, 2001.

ECOAR. Projeto Bacias Irmãs. Histórico da Bacia. Disponível em : http://www.baciasirmas.org.br/conheca_pisca_historia.asp. Acesso em: 16 Jun. 2007.

ERICSSON, C.D. Traveller's diarrhoea. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.21, p.116-124, 2003.

GIBBONS, J.W. Variation in growth rates in three populations of the painted turtle, *Chrysemys picta*. **Herpetologica**, Chicago, v.23, n.4, p.296-303, Dec. 1967.

GIBBONS, J.W.; SCOTT, D.E.; RYAN, T.J.; BUHLMANN, K.A.; TUBERVILLE, T.D.; METTS, B.S.; GREENE, J.L.; MILLS, T.; LEIDEN, Y.; POPPY, S.; WINNE, C.T. The global decline of reptiles, déjà vu amphibians. **Bioscience**, Washington, v.50, n.8, p.653-666, 2000.

GLAZEBROOK, J.S.; CAMPBELL, R.S.F. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. I. Farmed turtles. **Diseases of Aquatic Organisms**, Amelinghausen, v.9, p.83-95, Oct. 1990a.

GLAZEBROOK, J.S.; CAMPBELL, R.S.F. A survey of the diseases of marine turtles in northern Australia. II. Oceanarium-reared and wild turtles. **Diseases of Aquatic Organisms**, Amelinghausen, v.9, p.97-104, Oct. 1990b.

GOLDSTEIN, E.J.C.; AGYARE, E.O.; VAGVOLGYI, A.E.; HALPERN, M. Aerobic bacterial oral flora of garter snakes: development of normal flora and pathogenic potential for snakes and humans. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.13, n.5, p.954-956, May, 1981.

GRANDE, M.D.; REZENDE, M.O.O.; ROCHA, O. Distribuição de compostos organoclorados nas águas e sedimentos da Bacia do Rio Piracicaba/SP – Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 26, n.5, p.678-686, 2003.

JACKSON, C.G.JR.; FULTON, M. A turtle colony epizootic apparently of microbial origin. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.6, p.466-468, Oct. 1970.

JACKSON, C.G.JR.; FULTON, M.; JACKSON, M.M. Cranial asymmetry with massive infection in a box turtle. **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.8, p.275-277, Jul. 1972.

KRIEG, N. R.; HOLT, J.C. **Bergey's Manual of Sistematic Bacteriology**. 9th ed. Baltimore: Williams e Wilkins, 1994. 984 p.

KRUSCHE, A.V.; CARVALHO, F.P.; MORAES, J.M.; CAMARGO, P.B.; BALLESTER, M.V.R.; HORNINK, S.; MARTINELLI, L.A.; VICTORIA, R.L. Spatial and temporal water quality variability in the Piracicaba river basin, Brazil. **Journal of the American Water Resources Association**, Herndon, v.33, n.5, p.1117-1123, 1997.

LAGUEUX, C.J.; BJORNDAL, K.A.; BOLTEN, A.B.; CAMPBELL, C.L. Food Habits of *Pseudemys concinna suwanniensis* in a Florida Spring. **Journal of Herpetology**, Salt Lake City, v.29, n.1, p.122-126, Mar. 1995.

LENNETE, E. H.; HANSLER JR, W. J.; SHADOMY, H. J. **Manual of Clinical Microbiology**. . 4th . ed. Washington: American Society for Microbiology Press.1985. 1149 p.

LINDEMAN, P.V. Comparative life history of painted turtles (*Chrysemys picta*) in two habitats in the inland Pacific Northwest. **Copeia**, New York, v.1, p.114-130, 1996.

LYNCH, M.; DALY, M.; O'BRIEN, B.; MORRISON, F.; CRYAN, B.; FANNING, S. *Salmonella ter-el-kebir* and terrapins. **Journal of Infection**, Mundelein, v.38, p.182-184, 1999.

MARTINELLI, L.A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; CAMARGO, P.B.; BERNARDES, M.; FERRAZ, E.S.; MORAES, J.M.; BALLESTER, M.C. Effects of sewage on the chemical composition of Piracicaba river, Brazil. **Water, Air and Soil Pollution**, Dordrecht, v.110, p.67-79, 1999.

McCOY, R.H.; SEIDLER, R.J. Potencial pathogens in the environment: isolation, enumeration and identification of seven genera of intestinal bacteria associated with small green pet turtles. **Applied Microbiology**, Baltimore, v.25, n.4, p.534-538, 1973.

MIKAMO, H.; NINOMIYA, M.; SAWAMURA, H.; TAMAYA, T. Puerperal intrauterine infection caused by *Edwardsiella tarda*. **Journal of Infection and Chemotherapy**, Hikarigaoka v.9, p.341-343, 2003.

MITCHELL, J.C. Population ecology and life histories of the freshwater turtles *Chrysemys picta* and *Sternotherus odoratus* in an urban lake. **Herpetological Monographs**, Pittsburgh, v.2, p.40-61, 1988.

MOLL, D. Dirty river turtles. **Natural History**, New York, v.5, p.42-49, 1980.

MURRAY, P.R.; BARON, E.J.; PFALLER, M.; TENOVER, F.C.; YOLKEN, R.H. In: **Manual of Clinical Microbiology**. 7th ed. Washington: American Society for Microbiology. 1999. p.442-455.

NADA, T.; BABA, H.; KAWAMURA, K.; OHKURA, T.; TORII, K.; OHTA, M. A small outbreak of third generation cephem-resistant *Citrobacter freundii* infection in a surgical ward. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, Tokyo, v.57, p.181-182, 2004.

NOVAK, S.S.; SEIGEL, R.A. Gram-negative septicemia in American Alligators (*Alligator mississippiensis*). **Journal of Wildlife Diseases**, Lawrence, v.22, n.4, p.484-487, 1986.

OMETTO, J.P.; MARTINELLI, L.A.; BALLESTER, M.V.; GESSNER, A.; KRUSCHE, A.V.; VICTORIA, R.L.; WILLIAMS, M. Effects of land use on water chemistry and macroinvertebrates in two streams of the Piracicaba river basin, Southeast Brazil. **Freshwater Biology**, Oxford, v.44, p.327-337, 2000.

OMETTO, J.P.; GESSNER, A.; MARTINELLI, L.A.; BERNARDES, M.C.; KRUSCHE, A.V.; CAMARGO, P.B. Macroinvertebrates community as indicator of land-use changes in tropical watersheds, southern Brazil. **Ecohydrology & Hydrobiology**, Łódź, v.4, n.1, p.35-47, 2004.

ORÓS, J.; TORRENT, A.; CALABUIG, P.; DÉNIZ, S. Diseases and causes of mortality among sea turtles stranded in the Canary Islands, Spain (1998-2001). **Diseases of Aquatic Organisms**, Amelinghausen, v.63, p.13-24, Jan. 2005.

PASQUALE, V.; BALODA, S.B.; DUMONTET, S.; KROVACEK, K. An outbreak of *Aeromonas hydrophila* infection in turtles (*Pseudemis scripta*). **Applied and Environmental Microbiology**, Baltimore, v.60, n.5, p.1678-1680, May.1994.

PIEN, F.D.; JACKSON, M.T. Tuboovarian abscess caused by *Edwardsiella tarda*. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, St. Louis, v.173, n.3, p.964-965, 1995.

RAIDAL, S.R.; OHARA, M.; HOBBS, R.P.; PRINCE, R. Gram-negative bacterial infections and cardiovascular parasitism in green sea turtles (*Chelonia mydas*). **Australian Veterinary Journal**, Sydney, v.76, n.6, p.415-417, Jun. 1998.

RODRIGUES, M.T. The conservation of Brazilian reptiles: challenges for a megadiverse country. **Conservation Biology**, Malden, v.19, n.3, p.659-664, Jun. 2005.

ROSENTHAL, K.L.; MADER, D.R. Microbiology. In: MADER, D.R. **Reptile medicine and surgery**. Philadelphia: Saunders, 1996. chap.11, p.117-125.

RUIZ, G.; ROSENMAN, M.; NOVOA, F.F.; SABAT, P. Hematological parameters and stress index in rufous-collared sparrows dwelling in urban environments. **The Condor**, Albuquerque, v.104, p.162-166, 2002.

SABA, V.S.; SPOTILA, J.R. Survival and behavior of freshwater turtles after rehabilitation from an oil spill. **Environmental Pollution**, London, v.126, p.213-223, 2003.

SANTORO, M.; HERNANDEZ, G.; CABALLERO, M.; GARCIA, F. Aerobic bacterial flora of nesting green turtle (*Chelonia mydas*) from Tortuguero National Park, Costa Rica. **Journal of Zoo and Wildlife Medicine**, Lawrence, v.37, n.4, p.549-552, 2006.

SANTORO, M.; ORREGO, C.M.; GOMÉZ, G.H. Flora bacteriana cloacal y nasal de *Lepidochelys olivacea* (Testudines: Cheloniidae) en el pacífico norte de Costa Rica. **Revista de Biología Tropical**, San Jose, v.54, n.1, p.43-48, Mar. 2006.

SINCLAIR, M.I.; HELLARD, M.E.; WOLFE, R.; MITAKAKIS, T.Z.; LEDER, K.; FAIRLEY, C.K. Pathogens causing community gastroenteritis in Australia. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Hagerstown, v.20, p.1685-1690, 2005.

SOUZA, F.L.; ABE, A.S. Feeding ecology, density and biomass of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting a polluted urban river in south-eastern Brazil. **Journal of the Zoological Society of London**, London, v.252, p.437-446, 2000.

SOUZA, F.L.; ABE, A.S. Population structure and reproductive aspects of the freshwater turtle, *Phrynops geoffroanus*, inhabiting an urban river in southeastern Brazil. **Studies on Neotropical Fauna and Environment**, London, v.36, n.1, p.57-62, 2001.

TOLEDO, A.M.A.; BALLESTER, M.V.R. Variabilidade espaço-temporal do uso e cobertura do solo e a qualidade da água em duas microbacias do Estado de São Paulo. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 10., 2001. Foz do Iguaçu,. **Anais**: Foz do Iguaçu: INPE, 2001 p.543-545.

WARD, L. *Salmonella* perils of pet reptiles. **Communicable Diseases and Public Health**, London, v.3, n.1, p.2-3, Mar. 2000.

WATSON, J.T.; JONES, R.C.; SISTON, A.M.; FERNANDEZ, J.R.; MARTIN, K.; BECK, E.; SOKALSKI, S.; JENSEN, B.J.; ARDUINO, M.J.; SRINIVASAN, A.; GERBER, S. Outbreak of catheter-associated *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter cloacae* bloodstream infection in an oncology chemotherapy center. **Archives of internal medicine**, Chicago, v.165, n.22, p.2639-2643, 2005.

WILES, M.; RAND, T.G. Integumental ulcerative disease in a loggerhead turtle *Caretta caretta* at the Bermuda Aquarium: microbiology and histopathology. **Diseases of Aquatic Organisms**, Ameltinghausen, v.3, p.85-90, Dec. 1987.

WOODWARD, D.L.; KHAKHRIA, R.; JOHNSON, W.M. Human salmonellosis associated with exotic pets. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v.35, n.11, p.2786-2790, Nov. 1997.

WORK, T.M.; BALAZS, G.H.; WOLCOTT, M.; MORRIS, R. Bacteraemia in free-ranging Hawaiian green turtle *Chelonia mydas* with fibropapillomatosis. **Diseases of Aquatic Organisms**, Ameltinghausen, v.53, p.41-46, Jan. 2003.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A avaliação dos aspectos sanitários no presente estudo revelou que o perfil hematológico do cágado *Phrynops geoffroanus*, residente na bacia do rio Piracicaba, apresentou pouca diferença entre os animais dos dois corpos d'água estudados e comparando-se os resultados de ambos com dados de literatura não houve nenhum parâmetro que estivesse com valor acentuadamente alterado. Além disso, o estudo da microbiota bacteriana oral demonstrou que os animais estão em contato com bactérias patogênicas, porém não apresentam sinal aparente de infecção.

Os resultados encontrados indicam que a população de cágados de ambos os rios não apresenta nenhuma afecção e não há sinais de haver algo que possa ameaçá-los em curto prazo, em função dos exames realizados. Os estudos de estrutura populacional e densidade que foram feitos dentro do projeto em que este trabalho estava inserido, demonstraram uma elevada densidade de animais, assim como foi observado por outros autores brasileiros para a mesma espécie em outro corpo d'água poluído.

Em função de haver trabalhos em outros países e no Brasil, indicando que algumas espécies de quelônios estão aparentemente adaptadas a rios poluídos, a poluição em si não parece ser um impedimento para a sobrevivência destas espécies. Outros problemas relacionados a ambientes antropizados, como a falta de áreas para nidificação, ausência de troncos para assoalhar e atropelamentos precisam ser observados para a conservação das mesmas. Desta forma, estudos de longa duração são indicados para o monitoramento de populações de *Phrynops geoffroanus* em ambientes antropizados.